

MARIA JANETE ANGELONI MARCON

**PROPOSTA PARA O MECANISMO DE EXPANSÃO DO POLVILHO AZEDO
COM BASE NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS**

FLORIANÓPOLIS

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Maria Janete Angeloni Marcon

PROPOSTA PARA O MECANISMO DE EXPANSÃO DO POLVILHO AZEDO
COM BASE NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final à obtenção do grau de Doutora em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Edna Regina Amante

Florianópolis

2009

PROPOSTA PARA O MECANISMO DE EXPANSÃO DO POLVILHO AZEDO
COM BASE NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Maria Janete Angeloni Marcon

Tese aprovada como requisito para a obtenção do título de **Doutora em Ciência dos Alimentos** no Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Profª Drª Renata Dias de Mello Castanho Amboni
Coordenadora do Programa

Profª Drª Edna Regina Amante
Orientadora

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate

Prof. Dr. Eduardo Alano Vieira

Prof. Dr. Valdir Soldi

Profª Drª Valéria Reginatto

Prof. Dr. Marcelo Maraschin

Prof. Dr. Pedro Luiz Manique Barreto

Florianópolis, 20 de Novembro de 2009.

*Ao meu marido Roberto e aos meus filhos
Roberto e Paula, todo o meu amor!*

*“Suba o primeiro degrau com fé. Não é
necessário que você veja toda a escada,
apenas dê o primeiro passo!”*

(Martin Luther King).

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais Luiz (*in memoriam*) e Madalena, pessoas especiais que me deram a vida, os valores e responsáveis pelo que sou. Obrigado pelo tesouro! Amo vocês!
- Aos familiares e principalmente minha irmã Eliete, sempre presente, obrigado pela amizade e apoio.
- À Edna que além de orientadora é amiga e companheira, que nos acolhe como família, pelo carinho, paciência, incentivo, compreensão e sabedoria, minha eterna gratidão.
- A Valéria pela amizade, colaboração, pelo carinho e disponibilidade, o meu carinho e gratidão.
- A Manuela pela amizade, desprendimento, colaboração e assessoria, meu eterno carinho e estima. Você é especial!
- A Rossana pela amizade, organização e disposição de ajudar a todos. Meu carinho e amizade.
- A Aureana pela amizade e colaboração na realização das análises de espectroscopia de IR.
- Ao Diego pela ajuda e disposição, sempre pronto a colaborar. Estagiário como sempre “explorado”, mais com certeza um futuro profissional promissor.
- Aos “anjos” do nosso “LARboratório”, pela ajuda nas análises, informática, trocas de conhecimento, pelos bate-papos, cafés... foi uma troca gratificante.... a minha eterna amizade.

- A todos os amigos pelos momentos de descontração e estímulo. Valeu!
- Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, aos professores e funcionários, e principalmente ao Sérgio e a Inês que sempre estiveram prontos para colaborar.
- A CIDASC, a gerência e aos funcionários do Laboratório Físico, Químico e Biológico pelo apoio e colaboração.
- A Prof^a. Vera Frescura pela sua disposição colocando o laboratório a nossa disposição.
- Ao Ismael pela sua ajuda e colaboração na realização das análises de viscosidade intrínseca.
- Aos membros da banca Professora Valéria e Professores Ivo, Eduardo, Valdir, Marcelo e Pedro por aceitarem participar da defesa deste trabalho e pela contribuição dada na melhoria do mesmo.
- A todas as pessoas citadas e àquelas que eu possa ter esquecido – o meu carinho e amizade. MUITO OBRIGADO!
- Aos meus filhos Roberto e Paula. Agradeço a Deus todos os dias por fazerem parte da minha vida. AMO VOCÊS!
- Ao meu marido Roberto pelo amor e carinho, pela ajuda, pelos felizes anos de convívio, por acreditar em mim, e, junto com meus filhos ser meu maior incentivador - O MEU AMOR ETERNO!
- E principalmente a DEUS: CAMINHO, VERDADE e VIDA!, cuja luz ilumina minha jornada, me guia e ampara nos momentos difíceis e colocou todos vocês no meu caminho!

Marcon, M. J. A. **Proposta para o mecanismo de expansão do polvilho azedo com base nas características físico químicas**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

O amido de mandioca fermentado (polvilho azedo) pode ser considerado um amido modificado química e enzimaticamente com propriedade de expansão, que forma estrutura alveolar e leve em produtos tradicionais em panificação, sem a utilização de fermento químico ou biológico. É um produto livre de glúten, produzido em pequenas indústrias, onde não existe um sistema interno de controle de qualidade dos processos e produtos. Sendo o Brasil o país de origem do polvilho azedo, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de elaborar uma proposta para o mecanismo de expansão do polvilho azedo, estudando a relação entre amidos de mandioca nativos, polvilho azedo produzido em laboratório através da fermentação a partir de amido nativo de mandioca (polvilho azedo produzido em laboratório) e algumas marcas de polvilho comercial escolhidas a partir da opinião dos panificadores (consideradas como bons produtos para eles). A partir de análises de microscopia eletrônica de varredura, microscopia de fluorescência, análise em espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios X, calorimetria diferencial de varredura e também análises físico químicas, foi observado que o fator ácido, pH, volume específico, poder de inchamento e viscosidade intrínseca foram os parâmetros que tiveram as melhores correlações com a propriedade de expansão. O conhecimento acumulado sobre polvilho azedo foi revisado, em relação às suas características físico químicas e estruturais, com o propósito de estabelecer uma relação entre as propriedades práticas e assim desenhar um modelo para a estrutura modificada do amido. Essa abordagem ajudará a fornecer alguns padrões de qualidade adequados para a futura valorização do polvilho azedo, especialmente devido à possibilidade da sua utilização em produtos isentos de glúten. Este trabalho mostrou que um bom polvilho azedo tem diferenças significativas de pH, fator ácido, poder de inchamento, volume específico e grau de polimerização (viscosidade intrínseca) em comparação com os amidos de mandioca de baixa expansão. Essas variáveis poderiam ser associadas para a maximização da expansão do polvilho azedo para uma futura análise preditiva da qualidade do polvilho azedo utilizado em panificação. O pH e o percentual da perda de peso durante o assamento são úteis como referências para o desempenho de panificação das amostras laboratoriais e comerciais de polvilho azedo. Assim, tanto o pH quanto o fator ácido ou pH e o percentual de perda de peso constituem procedimentos simples, acessíveis para pequenas indústrias e panificadores e úteis para a predição do comportamento do polvilho azedo.

Palavras-chave: polvilho azedo, expansão, mandioca, amido, panificação

Marcon, M. J. A. **Proposal for the expansion mechanism of *polvilho azedo* based on its physicochemical characteristics**. 2009. Thesis (Doctor's Degree in Food Science) - Post-Graduation program in Food Science at UFSC - Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil.

Abstract

Sour cassava starch (*polvilho azedo*) may be considered a chemically and enzymatically modified starch. It is used in traditional products in bread-making because of its expansion property, which forms a light, alveolar structure and dismisses the use of any chemical or biological ferment. Also, it is a gluten-free product. It is produced in small industries, where there is no internal quality control system for their processes and products. Since Brazil is the country where *polvilho azedo* was originated, this present work was performed with the objective of elaborating a proposal for the expansion mechanism of *polvilho azedo*, where the focus of the study was on the relationship between native cassava starches, *polvilho azedo* produced in laboratory through fermentation by using native cassava starch (*polvilho azedo* produced in laboratory) and some cassava starch trademarks that were chosen based on the opinion of local bakers in relation to which trademarks they consider to be of a good quality *polvilho azedo*. Scanning electron microscopy analyses, fluorescence microscopy, infrared analysis (FTIR), X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, and also physicochemical analyses showed that acid factor, pH, specific volume, swelling power, and intrinsic viscosity were the parameters that had the best correlations with the expansion property of *polvilho azedo*. The accumulated knowledge on *polvilho azedo* was revised in relation to its physicochemical and structural characteristics in order to establish a relationship between its practical properties and thus draw a model for the modified structure of the starch. This approach will help to provide some appropriate quality patterns for the future valorisation of *polvilho azedo*, especially due to the possibility of its use in gluten-free products. This present work showed that good *polvilho azedo* has significant differences in pH, acid factor, swelling power, specific volume and polymerization degree (intrinsic viscosity) in comparison to low expansion cassava starches. These variables could be associated for a further predictive analysis of the *polvilho azedo* used in bread-making. pH and percentage of weight loss during baking are useful as references for the bread-making performance of laboratory and commercial *polvilho azedo* samples. Thus, pH and acid factor, as well as pH and percentage of weight loss, make up simple procedures, which are accessible for small industries and bakeries and are useful for the prediction of the behaviour of *polvilho azedo*.

Keywords: *polvilho azedo*, expansion, cassava, starch, bread-making.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	Estrutura e características dos grânulos de amido	21
2.1.1	Amilose	28
2.1.2	Amilopectina	31
2.2	Propriedades do amido	34
2.2.1	Inchamento e solubilidade do amido	35
2.2.2	Gelatinização do amido	38
2.3	Técnicas para o estudo das propriedades dos amidos	41
2.3.1	Viscosimetria	42
2.3.2	Microscopia eletrônica de varredura	44
2.3.3	Microscopia de fluorescência	47
2.3.4	Difração de raios X	48
2.3.5	Espectroscopia de infravermelho	52
2.3.5.1	Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	53
2.3.6	Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	57
2.4	A mandioca como fonte de amido	60
2.4.1	Polvilho azedo	64
2.4.1.1	Tecnologia de fabricação do polvilho azedo	66
2.4.1.2	Propriedades do polvilho azedo	75
2.5	Modelagem química de polímeros naturais	83
3	MATERIAL E MÉTODOS	86
3.1	Material	86
3.1.2	Preparo das amostras	86
3.2	Métodos	89
3.2.1	Entrevista com os padeiros	89
3.2.2	Análises físico químicas, ATR-FTIR e microscópicas	89

Umidade e cinzas	90
pH	90
Fator ácido	90
Amilose	90
Densidade absoluta	91
Índice de expansão	91
Volume específico	91
Densidade específica	92
Poder de inchamento e índice de solubilização	92
Viscosidade intrínseca	93
3.2.3 Espectroscopia de infravermelho com reflectância total atenuada e transformada de Fourier (<i>Attenuated total reflectance-Fourier-transform infrared spectroscopy</i> - ATR-FTIR)	93
3.2.4 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	94
3.2.5 Difração de raios X	94
3.2.6 Microscopia eletrônica de varredura	95
3.2.7 Microscopia de fluorescência	95
3.3 Correlação do índice de expansão com as características químicas, físico químicas e reológicas do polvilho azedo	96
3.4 Desenho do modelo químico para o mecanismo de expansão do polvilho azedo	96
3.5 Análise estatística	97
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
4.1 Etapa I	98
4.1.1 Entrevista com os padeiros	98
4.1.2 Microscopia de fluorescência e microscopia eletrônica de varredura	99
4.1.3 Caracterização físico química dos grânulos de amido	104
4.1.4 ATR-FTIR das amostras de fécula de mandioca e polvilho azedo	123
4.1.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	127
4.1.6 Difração de raios X	133
4.1.7 Desenho do mecanismo de expansão do polvilho azedo	138
4.2 Etapa II	142

5 CONCLUSÃO	156
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158
7 ANEXOS	178
Anexo A – Effect of Physical-chemical Parameters on Sour Cassava Starch - Artigo publicado pela Revista <i>Stärke-Starch</i> (n. 61; p. 716-726; 2009)	179
Anexo B – Artigo submetido ao <i>International Journal of Food Science and Technology</i>	182
Anexo C – Árvore do Amido	185

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática do grânulo de amido	22
Figura 2	(A) Classificação das cadeias de amilopectina em tipo A, B e C; (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido; (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo; (D) Estrutura de dupla hélice e os pontos de ramificação unidos por ligações α - 1-6	25
Figura 3	Representação parcial da estrutura da amilose	29
Figura 4	Estrutura representativa parcial da amilopectina	32
Figura 5	Estrutura representativa da amilopectina	33
Figura 6	Representação esquemática das mudanças que ocorrem no amido durante o aquecimento em excesso de água	36
Figura 7	Tipos de viscosímetros capilares: (a) Viscosímetro de Ostwald, (b) Viscosímetro de Cannon-Fanske , (c) Viscosímetro de Ubbelohde	43
Figura 8	Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)	46
Figura 9	Esquema mostrando os raios incidentes e “refletidos” por planos cristalinos de espaçamento d	50
Figura 10	Diagrama de difração de raios X dos amidos de cristalinidade tipo A, B e C	51
Figura 11	Faixa de energia de grupos funcionais orgânicos ativos no infravermelho	55
Figura 12	Interferograma típico obtido por um espectro no infravermelho por transformada de Fourier e o espectro correspondente	56
Figura 13	Representação esquemática de termogramas de DSC	59
Figura 14	Ilustração da mandioca (<i>Manihot esculenta</i> , Crantz)	60
Figura 15	Fluxograma sintético do processo de produção de fécula de mandioca	63
Figura 16	Processo de produção de polvilho azedo (adaptado de Marder et al., 1996).....Rota alternativa na entressafra da mandioca	68

Figura 17	Micrografia de microscopia eletrônica de varredura de grânulos de fécula de mandioca (A1, A2) e de polvilho azedo (B1, B2, B3 e B4)	76
Figura 18	Diferença na capacidade de expansão de biscoitos confeccionados com fécula de mandioca (A) e com polvilho azedo (B) de três regiões do Estado de Santa Catarina: 1- Santa Rosa, 2 – Tubarão, 3 - Rio do Sul	78
Figura 19	Amilograma comparativo de fécula de mandioca e de polvilho azedo	79
Figura 20	Difratograma de raios X descritivo do método de índice de cristalinidade relativa adaptado à razão das intensidades difratadas	95
Figura 21	Microscopia de fluorescência de fécula de mandioca FMK (1) e FMY (2), polvilho azedo fermentado em laboratório seco em estufa - PASE (3 e 4) e seco ao sol – PASSOL (5 e 6), utilizando os fluorocromos laranja de acridina + ANS e luz azul (100 X)	100
Figura 22	Micrografia eletrônica de varredura de grânulos de fécula de mandioca FMK (A) e FMY (B), polvilho azedo fermentado em laboratório seco em estufa – PASE (C), seco ao sol - PASSOL (D) e polvilho azedo mix - PAM (E)	101
Figura 23	Diferença de capacidade de expansão da fécula de mandioca, polvilho azedo fermentado em laboratório seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM)	109
Figura 24	Massa molar média, calculada a partir dos resultados da viscosidade intrínseca, para as féculas de mandioca (FMK e FMY), polvilhos azedos fermentados em laboratório seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM)	118
Figura 25	Comportamento de fécula de mandioca e do polvilho azedo em massas de panificação	122
Figura 26	Aspectos diferentes para o desempenho do polvilho azedo em rosca de polvilho (A) e pães de queijo (B) com estrutura firme (1) ou gomosa (2)	123
Figura 27	Plotagem dos componentes principais dos dados de FTIR para a fécula de mandioca (FMK, FMY), polvilho azedo mix (PAM), polvilho azedo seco em estufa (PASE), e polvilho azedo seco ao sol (PASSOL). Os eixos PC1 x PC2 cruzam na origem	125

Figura 28	Perfis de difração de raios-X das féculas de mandioca (FMK e FMY), polvilho azedo fermentado em laboratório seco ao sol (PASSOL), seco em estufa (PASE) e polvilho azedo mix (PAM)	134
Figura 29	Cenário estimativo do mecanismo de modificação química do polvilho azedo	140
Figura 30	Relação do poder de inchamento com o índice de expansão do total das amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos	143
Figura 31	Relação do poder de inchamento com o índice de expansão das amostras de fécula de mandioca (FM1, FM2, FM3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC1, PAC2, PAC3, PAM, PAR1, PAR2, PAR3)	144
Figura 32	Relação entre o índice de expansão e o pH do total das amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos	145
Figura 33	Relação entre o índice de expansão e o pH das amostras de fécula de mandioca (FM1, FM2, FM3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC1, PAC2, PAC3, PAM, PAR1, PAR2 e PAR3)	146
Figura 34	Relação entre o índice de expansão e o fator ácido do total das amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos	147
Figura 35	Relação entre o índice de expansão e o fator ácido das amostras de fécula de mandioca (FM1, FM2, FM3, FMK, FMY) e polvilhos azedos (PAC1, PAC2, PAC3, PAM, PAR1, PAR2 e PAR3)	148
Figura 36	Relação entre índice de expansão e volume específico do total das amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos	149
Figura 37	Relação entre índice de expansão e volume específico das amostras de fécula de mandioca (FM1, FM2, FM3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC1, PAC2, PAC3, PAM, PAR1, PAR2 e PAR3)	149
Figura 38	Relação entre o índice de expansão e a viscosidade intrínseca de amostras de fécula de mandioca (FM1, FM2, FM3, FMK, FMY) e polvilhos azedos (PAC1, PAC2, PAC3, PAM, PAR1, PAR2, PAR3)	150
Figura 39	Superfície de resposta relacionando o índice de expansão, o fator ácido e o pH das amostras de fécula de mandioca (FM1, FM2, FM3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC1, PAC2, PAC3, PAM, PAR1, PAR2 e PAR3)	152

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tamanho e forma dos grânulos de amido de diferentes origens botânicas	23
Tabela 2	Teores de amilose de amido de diferentes fontes botânicas	30
Tabela 3	Poder de inchamento e solubilidade do amido de várias fontes botânicas em temperatura de 90°C	38
Tabela 4	Grau de cristalinidade relativa (%) de diferentes amidos determinados por hidrólise ácida, difração de raios X e RMN- ¹³ C	52
Tabela 5	Resumo das regiões espectrais em função dos modos vibracionais	54
Tabela 6	Valores de ácidos orgânicos de amostras de polvilho azedo	71
Tabela 7	Composição centesimal da fécula de mandioca e de duas amostras de polvilho azedo comercial das marcas Caribé (Polvilho A) e Cruzeiro do Sul (Polvilho B)	80
Tabela 8	Identificação das amostras	88
Tabela 9	Características físico químicas das amostras de féculas de mandioca (FMK e FMY), polvilho azedo mix (PAM), polvilho azedo fermentado em laboratório seco ao sol (PASSOL) e seco em estufa (PASE)	105
Tabela 10	Análise térmica (DSC) das amostras de féculas de mandioca (FMK e FMY), dos polvilhos azedos fermentados em laboratório seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM).	128
Tabela 11	Variações nas propriedades calorimétricas da fécula de mandioca nativa em diferentes tempos de avaliação	132
Tabela 12	Intensidades dos principais picos dos difratogramas de raios-X das féculas de mandioca (FMK e FMY), dos polvilhos azedos fermentados em laboratório seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM)	136
Tabela 13	Características físico químicas das amostras de féculas de mandioca (FMK e FMY), dos polvilhos azedos fermentados em laboratório seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM)	142

Tabela 14	Relação entre o índice de expansão e a perda de peso de amostras de fécula de mandioca, polvilho azedo fermentado em laboratório com baixa performance (BP), com alta performance (AP) e polvilho azedo comercial	154
-----------	---	------------

LISTA DE ABREVIATURAS

ALAB	Bactéria ácido-lática amilolítica
ANS	Anilino-naftalina-sulfato
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ATR-FTIR	Espectroscopia de infravermelho com reflectância total atenuada e transformada de Fourier (<i>Attenuated total reflectance-Fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
BAL	Bactéria ácido láctica
CIDASC	Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina
CONCEX	Conselho de Comércio Exterior
DSC	Calorimetria diferencial de varredura (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
DP	Grau de polimerização
ΔH	Entalpia
HTM	Tratamento hidrotérmico
HPSEC	<i>High performance size exclusion chromatography</i>
IC	Índice de cristalinidade
IR	Infrared (infravermelho)
LFH	Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças
MAPA	Ministério da Agricultura
MEV	Microscópio eletrônico de varredura
MET	Microscópio eletrônico de transmissão
MO	Microscópio óptico
RMN	Ressonância magnética nuclear
RVA	Rápido Visco Analisador
SEC	Cromatografia de exclusão molecular
UV	Ultravioleta
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

1 INTRODUÇÃO

A Ciência dos Alimentos, dentre outras atribuições, procura elucidar os mecanismos químicos e bioquímicos responsáveis pelas propriedades tecnológicas de matérias primas e produtos das indústrias de alimentos. O conhecimento científico sobre alimentos tradicionalmente produzidos e consumidos em países desenvolvidos tais como cereais tradicionais, leite e carne, está amplamente difundido, sendo o nível de avanço tecnológico proporcional ao investimento na compreensão dos mecanismos químicos que regulam as características tecnológicas para estas matérias primas e seus derivados.

Contrariamente a este cenário, as matérias primas e produtos originados em países em desenvolvimento, ditos nativos (“*indigenous fermented foods*” segundo STEINKRAUS, 1995), têm sido pouco estudados, no que se refere aos mecanismos químicos que definem o seu comportamento tecnológico. Um bom exemplo desta realidade é o polvilho azedo, um produto da fermentação do amido de mandioca, típico do Brasil, também produzido em outros países da América do Sul, tais como Argentina, Colômbia e Equador, onde é denominado *almidón agrio* (MARCON; AVANCINI; AMANTE., 2007a).

Enquanto os amidos nativos de diferentes fontes possuem ampla aplicação em outros setores industriais, adicionalmente ao alimentício, o polvilho azedo apresenta aplicação exclusivamente na produção de alimentos, embora este cenário possa ser modificado, com o investimento em pesquisas sobre suas propriedades, ampliando o espectro de aplicações.

A fermentação natural do amido de mandioca resulta em uma modificação na superfície dos grânulos, com perfurações provocadas por enzimas amilolíticas

(MARCON et al., 2006), além de modificações na acidez, no pH e nas propriedades reológicas do produto (DEMIATE et al., 2000). A principal diferença entre o amido fermentado e o amido nativo de mandioca, reside na propriedade de expansão.

A compreensão da estrutura dos grânulos de amido é importante no entendimento de suas propriedades físico químicas, as quais determinam o comportamento do amido natural ou modificado, nos mais diversos processos industriais a que eles normalmente são submetidos (BEMILLER, 1997).

Diferentemente de outros amidos, o amido fermentado de mandioca tem a propriedade de expandir no cozimento, sem a adição de fermento químico ou biológico. Esta propriedade vem sendo apreciada de modo crescente pela indústria de panificação, em especial para o preparo de massas para consumidores celíacos, pois o polvilho azedo é livre de glúten.

O interesse pelo uso desta importante matéria prima encontra a falta de padronização como barreira, decorrente do processo produtivo, com a fermentação natural e secagem ao sol, indispensáveis na obtenção do polvilho azedo. O consumidor procura uma massa crescida, com textura alveolar e homogênea. No entanto, alguns polvilhos apresentam reologia indesejável e o controle ou informações sobre os parâmetros tecnológicos para a tomada de decisão sobre os melhores polvilhos estão indisponíveis ou são desconhecidos. O primeiro motivo para este desconhecimento reside na diversidade entre as matérias primas e os efeitos sobre as características nos grânulos de amido, precursores dos grânulos fermentados. O encaminhamento do processo de fermentação, as condições climáticas e as características da microbiota predominante nos fermentadores interferem de forma decisiva nas propriedades do polvilho azedo (ASCHERI; VILELA, 1995).

Diversos trabalhos científicos têm procurado elucidar os efeitos da natureza do grânulo, do processo fermentativo e, da secagem sobre a expansão do polvilho azedo (BERTOLINI et al., 2001a; BERTOLINI et al., 2001b; VATANASUCHART et al., 2005). No entanto, nenhum destes trabalhos colocou uma relação definitiva entre os parâmetros físico químicos, a expansão e o padrão adotado pelos padeiros para a escolha dos polvilhos da sua preferência.

Sendo o Brasil o país de origem do polvilho azedo, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de elaborar uma proposta para o mecanismo de expansão do polvilho azedo. Esta proposta foi elaborada por meio de um modelo construído a partir de um estudo aprofundado de trabalhos científicos realizados sobre a estrutura química do grânulo de amido nativo, gelatinizado e expandido. Além desta revisão e organização das conclusões e metodologias empregadas, foram entrevistados os panificadores de supermercados da Grande Florianópolis, reunindo informações sobre os parâmetros por eles adotados na tomada de decisão para a compra do polvilho da sua preferência. Ao final deste trabalho, foram realizadas avaliações químicas, físicas ou reológicas que permitiram reunir os subsídios necessários para a proposta do mecanismo químico da expansão do polvilho azedo.

O trabalho está apresentado, inicialmente, com uma revisão bibliográfica, em seguida, o capítulo de material e métodos, expondo que o trabalho foi realizado em duas etapas, tendo a primeira o objetivo de propor um mecanismo de expansão do polvilho azedo e, a segunda, o de estabelecer os parâmetros mais acessíveis às condições de análise das empresas produtoras de polvilho azedo e dos panificadores, relacionados com a sua capacidade de expansão.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Estrutura e características dos grânulos de amido

O amido é a principal substância de reserva nas plantas superiores, sendo abundante em sementes, raízes e tubérculos. É um dos principais componentes da maioria dos vegetais, fornecendo de 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem (WHISTLER; DANIEL, 1993; TETCHI et al., 2007).

Os depósitos permanentes de amido nas plantas ocorrem principalmente nos órgãos de reserva como é o caso de grãos de cereais (arroz, milho e trigo), de leguminosas (feijão, ervilha, lentilha) e tubérculos e raízes (batata, mandioca, taro, inhame) (HOSENEY, 1986; GEBRE-MARIAN; ADABA; SCHMIDT, 1998; JANOUSKOVA et al., 2001; LEONEL; CEREDA, 2002; TAKIZAWA et al., 2004).

O amido é o único polissacarídeo produzido em pequenos agregados individuais, denominados grânulos (WHISTLER; DANIEL, 1993), conforme representado na Figura 1.

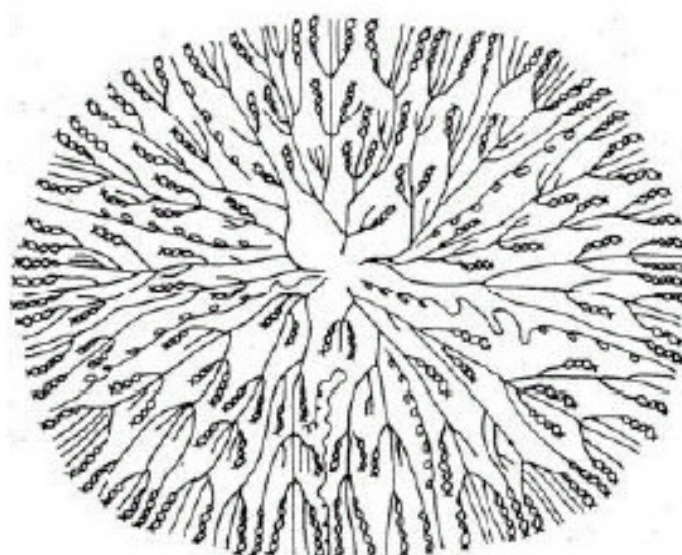


Figura 1 Representação esquemática do grânulo de amido.

Fonte: Lineback (1986) apud Feniman (2004).

A biossíntese do amido ocorre em uma organela subcelular especializada, o amiloplasto, onde se encontram as enzimas que catalisam a biossíntese da amilose e amilopectina. A sacarose é o material inicial para a biossíntese do amido que é transportada dos tecidos fotossintéticos da planta em desenvolvimento para os órgãos de armazenamento (HOSENEY, 1986; GALLIARD; BOWLER, 1987 apud FENIMAN, 2004).

A variação no tamanho dos grânulos de amido (1 e 100 μm) (Tabela 1), distribuição de tamanho, composição e forma (circular, elíptica, ovalada, lenticular ou poligonal) refletem a origem botânica (TESTER; KAKALAS; QI, 2004).

Tabela 1 Tamanho e forma dos grânulos de amido de diferentes origens botânicas.

Amido	Espécie	Forma	Diâmetro (μm)
Cevada	Cereal	Lenticular (tipo A),	15 - 25
		Esférica (tipo B)	2 – 5
Milho (waxy e normal)	Cereal	Esférica/ poliédrica	2 – 30
Aveia	Cereal	Poliédrica	3 – 10
Ervilha	Legume	Reniforme	5 – 10
Batata	Tubérculo	Lenticular	5 – 100
Arroz	Cereal	Poliédrica	3 – 8
Centeio	Cereal	Lenticular (tipo A),	10 – 40
		Esférica (tipo B)	5 – 10
Sorgo	Cereal	Esférica	5 – 20
Mandioca	Raiz	Esférica/ lenticular	5 – 45
Triticale	Cereal	Esférica	1 – 30
Sagu	Cereal	Oval	20 – 40
Trigo	Cereal	Lenticular (tipo A)	15 – 35

Fonte: Adaptado de Tester, Karkalas e Qi (2004).

O tamanho e forma dos diferentes grânulos variam de acordo com a origem botânica e podem afetar o comportamento físico-químico, reológico, textural e

morfológico de novos produtos (LINDEBOOM et al., 2004 apud ACOSTA et al., 2006, AO; JANE, 2007).

O amido é constituído principalmente de carboidratos, mas também estão presentes em sua composição, em pequenas quantidades, lipídeos, proteínas, cinzas e sais minerais, que afetam as suas propriedades (HOSENEY, 1986). A quantidade destes constituintes depende da composição da planta e do método de extração. Quanto menor o teor dessas substâncias, melhor a qualidade do amido (PERONI, 2003).

O amido é composto basicamente por dois polímeros: amilose e amilopectina, que representam 97 a 99 % do peso seco do mesmo. Estes dois componentes diferem entre si quanto ao peso molecular, ao grau de polimerização e a disposição no interior do grânulo (BLANSHARD, 1987; TESTER; KAKALAS; QI, 2004).

A proporção de amilose e amilopectina, e suas respectivas estruturas moleculares diferenciam os amidos de origens botânicas distintas, cultivares e até de mesmo cultivo em diferentes condições (BULÉON et al., 1998; KITAHARA; COPELAND, 2004; TETCHI et al., 2007). Amidos de diferentes fontes botânicas exibem diferentes estruturas químicas, as quais influenciam suas propriedades características funcionais (MADHUSUDHAN; GOWDA; THAANATHAN, 1996; NILSSON et al., 2004).

As moléculas de amilose e amilopectina do amido desenvolvem-se a partir de uma única unidade de α - D – glucopiranosil adicionada sequencialmente, doada pelas moléculas de adenosina difosfato glicose para produzir uma cadeia de unidades α - D – glucopiranosose unidas por ligações α - (1, 4). Além da enzima responsável pelo aumento do tamanho da cadeia, a enzima ramificadora está ativa, a qual necessita de uma cadeia linear de 40 a 50 unidades antes de transferir uma porção de cadeia, que se torna uma ramificação de ligação α - (1, 6) e, assim, ambos os terminais não redutores

podem continuar sendo alongados. Esses pontos de ligação das ramificações constituem 4 a 5 % do total de ligações (BULÉON et al., 1998; FRANCO et al., 2001; HOOVER, 2001).

Todos os grânulos de amido apresentam um hilo, que constitui o centro de nucleação, ao redor do qual se desenvolvem (WHISTLER; DANIEL, 1993) (Figura 2).

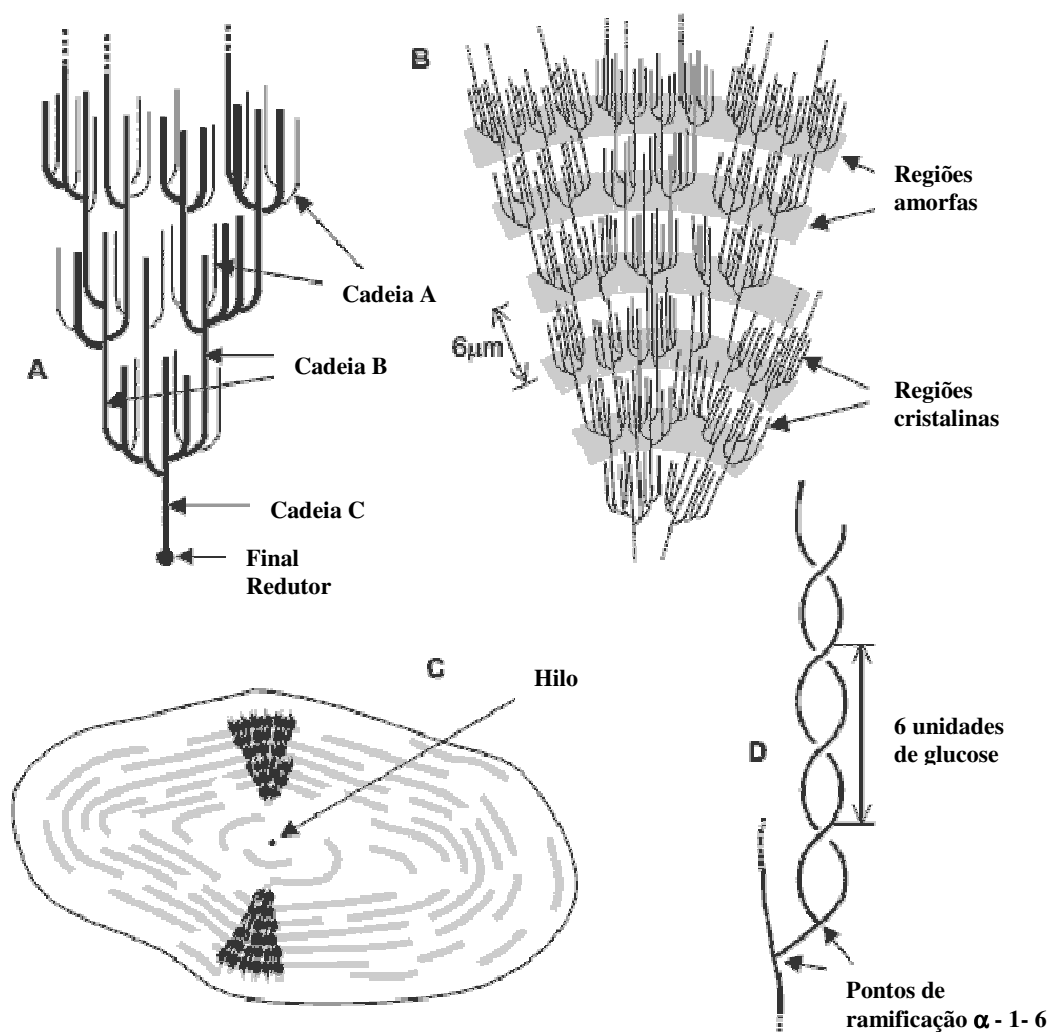


Figura 2 (A) Classificação das cadeias de amilopectina em tipo A, B e C; (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido; (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo; (D) Estrutura de dupla hélice e os pontos de ramificação unidos por ligações α - 1-6.

Fonte: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>

A birrefringência óptica e as propriedades de difração de raios X fornecem ampla evidência da estrutura ordenada do grânulo de amido. Os grânulos têm regiões cristalinas e não cristalinas em camadas alternadas. As ramificações agrupadas de amilopectina ocorrem como feixes de dupla hélice. Essas estruturas, a partir de muitas regiões cristalinas pequenas, nas camadas densas dos grânulos de amido, se alternam com camadas amorfas (WHISTLER; DANIEL, 1993; GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; WHISTLER; BEMILLER, 1997).

Os grânulos de amido são birrefringentes e quando observados sob luz polarizada apresentam a típica “Cruz de Malta”, fenômeno relacionado à elevada ordem molecular. Os diferentes graus de ordenação estrutural dos grânulos são responsáveis pelas propriedades de birrefringência e cristalinidade (HOSENEY, 1986).

As camadas concêntricas podem ser observadas em microscopia eletrônica dos grânulos de amido submetidos a tratamento ácido ou a digestão parcial por amilases. Esta técnica ilustra o fato de que o grânulo possui regiões mais cristalinas ordenadas do que regiões amorfas, nas quais as cadeias poliméricas estão menos ordenadas e mais susceptíveis ao ataque ácido ou enzimático (ZHOU et al., 1998).

Biliaderis (1992) afirma que são as áreas cristalinas do amido que mantêm a estrutura do grânulo, controlam o seu comportamento na presença de água e os tornam mais ou menos resistentes aos ataques químicos e enzimáticos. A zona amorfa dos grânulos de amido é a região menos densa, mais suscetível aos ataques enzimáticos e absorve mais água em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização. Não existe uma demarcação entre as regiões amorfas e cristalinas, o que existe são as evidências de uma estrutura supramolecular onde as fases amorfas e cristalinas são interdependentes. Os grânulos de amido intactos apresentam três padrões de raios X. A maioria dos amidos de cereais apresenta padrão A, os amidos de batata, outras

tuberosas e amidos retrogradados têm padrão B e leguminosas possuem padrão C. Existe uma forma intermediária, provavelmente devido a mistura dos tipos A e B (HOSENEY, 1986).

A estrutura do amido pode ser descrita em termos de propriedades físico químicas das moléculas constituintes, variações da composição, interações moleculares (arquitetura) e do grânulo em si (TESTER; KAKALAS; QI, 2004).

O amido ganhou importância no desenvolvimento de novos produtos por seu baixo custo e alta disponibilidade a partir de diferentes fontes (DEMIRGROZ et al., 2000 apud ACOSTA et al., 2006). Os usos industriais do amido são primeiramente determinados pelas suas propriedades físico químicas (REIS; FERREIRA; SARMENTO, 2002).

O mercado de amidos vem crescendo e se aperfeiçoando, levando à busca de produtos com características específicas que atendam às exigências da indústria (LEONEL; JACKEY; CEREDA, 1998; TAKIZAWA et al., 2004).

As razões que levam à modificação, segundo BeMiller (1997) são: modificar as características de cozimento (gelatinização); diminuir a retrogradação e a tendência das pastas em formarem géis; aumentar a estabilidade das pastas ao resfriamento e descongelamento; melhorar a transparência e a adesividade das pastas ou géis; melhorar a textura das pastas ou géis e a formação de filmes; adicionar grupamentos hidrofóbicos e introduzir poder emulsificante.

Alterações nas propriedades tecnológicas dos amidos podem ser obtidas por processos físicos tais como tratamento térmico, exposição a radiações ou por processos químicos nos quais se empregam reagentes específicos para alterar a estrutura das macromoléculas componentes do amido. Ainda há a possibilidade de serem

empregados processos enzimáticos (BEMILLER, 1997; GUILBOT; MERCIER, 1985 apud SILVA et al., 2006).

2.1.1 Amilose

A amilose (Figura 3) possui massa molecular que varia de 1×10^5 a 1×10^6 g/mol, é essencialmente linear, consistindo de unidades de D-glicose, unidas entre si por ligações glicosídicas α -1,4 (BULÉON et al., 1998). Entretanto, segundo Hoseneey (1986), Whistler e BeMiller (1997), Buléon et al. (1998) e Thomas e Atwell (1999) pode ocorrer a presença de algumas ramificações, com ligações α -1,6 em 0,3 a 0,5% do total de ligações na molécula. As moléculas de amilose tendem a formar estruturas helicoidais, apresentando-se com uma dupla hélice em solução, e poderiam estar neste estado nos grânulos de amido (WHISTLER; DANIEL, 1993).

Embora tipicamente ilustrada por uma estrutura de cadeia linear, a amilose de fato é frequentemente helicoidal. O interior da hélice contém átomos de hidrogênio hidrofóbico e permitem que a amilose forme complexos com ácidos graxos livres, com glicerídeos, com álcoois orgânicos, ácidos e com iodo. Tais complexos são chamados compostos de inclusão helicoidal (HOSENEY, 1986).

O conteúdo de amilose influencia as propriedades nutricionais e tecnológicas, como também na susceptibilidade à hidrólise enzimática e na gelificação e comportamento da pasta (WHISTLER; BEMILLER; PASCHALL, 1984).

Durante o aquecimento do grânulo de amido em meio aquoso, a amilose contribui na viscosidade da fase contínua da dispersão amido-água (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997).

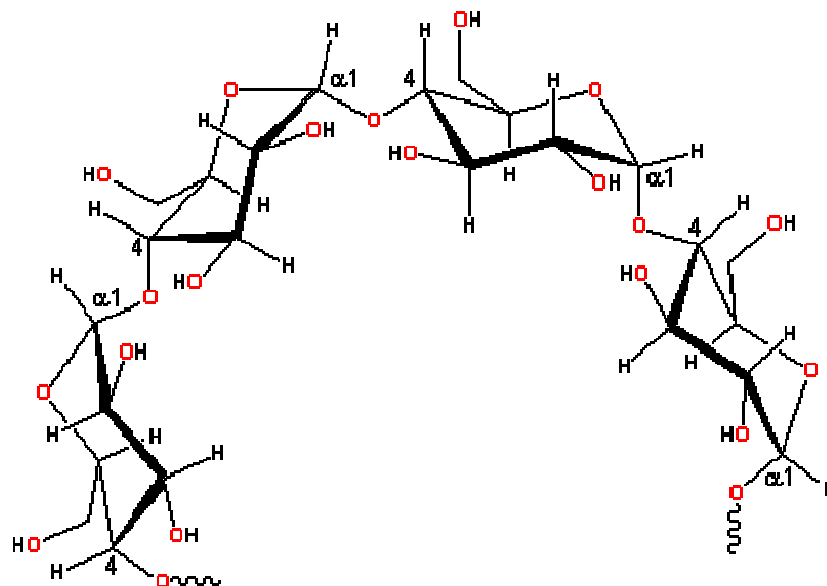


Figura 3 Representação parcial da estrutura da amilose.

Fonte: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>

Outra habilidade da amilose é a de formar pasta depois do grânulo de amido ter sido gelatinizado. Este comportamento é evidente em certos amidos que contêm maiores teores de amilose, como o amido de milho, trigo, arroz e particularmente amido de milho com alto teor de amilose, isolado de plantas híbridas de milho os quais são usualmente considerados amidos formadores de pasta. A formação da pasta decorre principalmente da reassociação dos polímeros de amido solubilizados, depois de cozidos e, pode acontecer bem rapidamente com polímeros de cadeia linear (THOMAS; ATWEEL, 1999).

As características físico químicas e as propriedades do amido podem ser profundamente afetadas pelos teores de amilose (JANE et al., 1999).

De amido para amido os teores de amilose e amilopectina podem variar nas quantidades relativas, tamanho, forma e modo de associação no grânulo, o que determina a extensão e o tipo de estrutura cristalina (AMANTE, 1986).

A proporção de amilose nos amidos vai de 0 (zero) em amido de milho *waxy*, até 70 a 80 %, em amido de ervilha rugosa (i.e. *wrinkled pea*) (WHISTLER; BEMILLER; PASCHALL, 1984).

Na Tabela 2 é possível visualizar a diferença entre os teores de amilose de diversos amidos tropicais.

Tabela 2 Teores de amilose de amido de diferentes fontes botânicas

Fonte	Amilose (%)
Batata	25,4 ¹
Batata-doce	19,1 ¹
Mandioquinha-salsa	23,0 ²
Milho	24,5 ³
Milho ceroso	1,1 ³
Mandioca	18,6 ¹

¹Hoover (2001); ²Leonel e Cereda (2002); ³Zheng e Sosulski (1998).

Fonte: Takizawa et al. (2004).

A amilose é um dos componentes responsáveis pela estrutura do grânulo e sua quantificação é de grande importância para entender o comportamento do amido. Apesar dessa importância, nenhuma das metodologias utilizadas para sua quantificação é totalmente aceita, pois ocorre grande variação nos resultados obtidos, gerando pouca confiabilidade nas metodologias empregadas (BULÉON et al., 1998; PERONI, 2003).

O teor de amilose é comumente avaliado por métodos que envolvem a reação com iodo, como potenciométricos, amperométricos, ou espectrofotométricos, medindo a absorbância do complexo amido-iodo (*Blue value*). Esses métodos se baseiam na capacidade que a estrutura helicoidal da amilose tem em formar complexos de inclusão com iodo, apresentando uma coloração azul característica, pela absorção máxima no

comprimento de onda de 620 nm. Quanto maior a afinidade por iodo, maior será o teor de amilose do amido (GÉRARD et al., 2001).

A complexação com iodo (de cor azul) é uma importante ferramenta de diagnóstico para caracterização do amido. Complexos de amilose com gorduras e emulsificantes de alimentos como mono e diglicerídeos podem alterar as temperaturas de gelatinização do amido, alternando a textura e o perfil da viscosidade da pasta resultante, limitando a retrogradação (THOMAS; ATWEEL, 1999).

A cromatografia de exclusão molecular (SEC) consiste em outro método empregado para a determinação do teor de amilose, permitindo separar as moléculas de acordo com seu raio hidrodinâmico. O teor de amilose é calculado comparando a população de cadeias longas ($DP > 100$) atribuídas à amilose com as cadeias mais curtas, geralmente da amilopectina (GÉRARD et al., 2001).

O teor de amilose é geralmente expresso como amilose aparente, isto devido à capacidade de algumas cadeias ramificadas externas de amilopectina interagirem com o iodo superestimando o teor de amilose (KASEMSUAWAM et al., 1995; JANE et al., 1999).

2.1.2 Amilopectina

A amilopectina (Figura 4) está presente em todos os amidos conhecidos, constituindo em torno de 75 % dos amidos mais comuns (WHISTER; BEMILLER, 1999).

É uma molécula altamente ramificada constituída de unidades D-glicose ligadas em $\alpha - (1, 4)$; aproximadamente 4 a 5 % dessas cadeias estão ligadas entre si por ligações $\alpha - (1, 6)$ (HOSENEY, 1986; BULÉON et al., 1998; SASAKI; YASUI; MATSUKI, 2000); o peso molecular varia de 1×10^7 a 5×10^8 g/mol, dependendo de sua

origem (CHEFTEL; CHEFTEL, 1976; ZOBEL e STEPLEN, 1995; GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997; WHISTLER e BEMILER, 1997; BULÉON et al., 1998; FENEMA, 2000; FRANCO et al., 2001; SOARES, 2003).

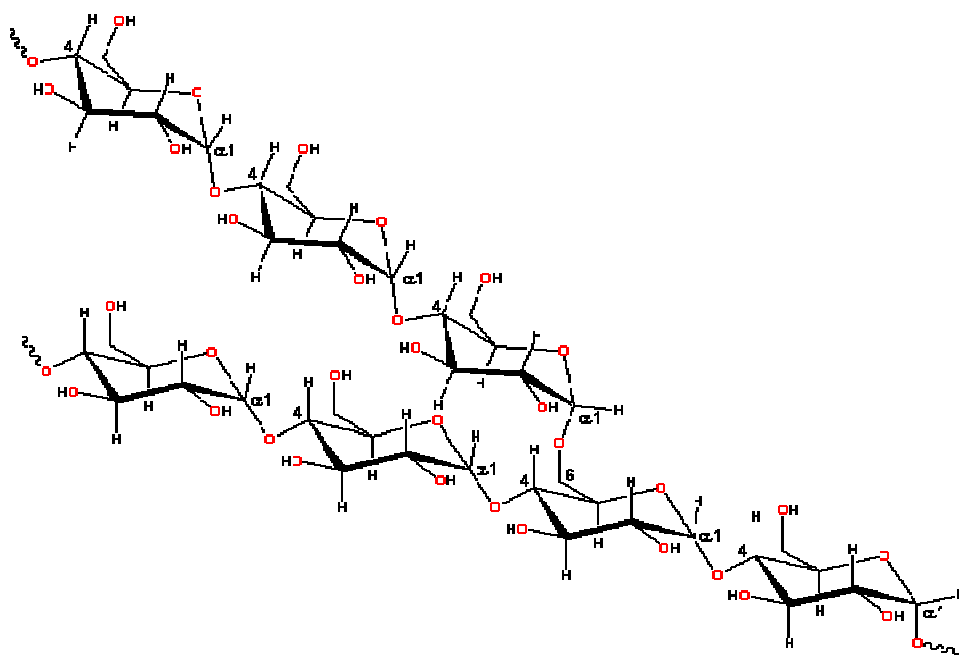


Figura 4 Estrutura representativa parcial da amilopectina.

Fonte: Fonte: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>

As ramificações da amilopectina possuem dupla hélice e o comprimento das cadeias varia com a origem do amido e a espécie, porém é comum apresentarem entre 20 e 30 unidades de glicose (BULÉON et al., 1998; MOORE, 2001; FRANCO et al., 2001; SOARES, 2003).

A estrutura da amilopectina foi assunto de pesquisas durante os últimos anos. Vários modelos estruturais têm sido propostos para explicar o modo das cadeias unitárias arranjam-se para proporcionar a estrutura altamente ramificada (WANG; WHITE; POLLAK, 1993; FRANCO et al., 2001).

A molécula de amilopectina é constituída por três tipos de cadeias: as cadeias A, compostas de glicose unidas por ligações α -1,4; as cadeias B, compostas por glicose

unidas por ligações α -1,4 e α -1,6 e as cadeias C que possuem ligações α -1,4 e α -1,6 e um grupamento final não redutor (HOSENEY, 1986) (Figura 5).

• **Ligações α -1,4 de D-glicose**

• **Ramificações α -1, 6 de D-glicose**

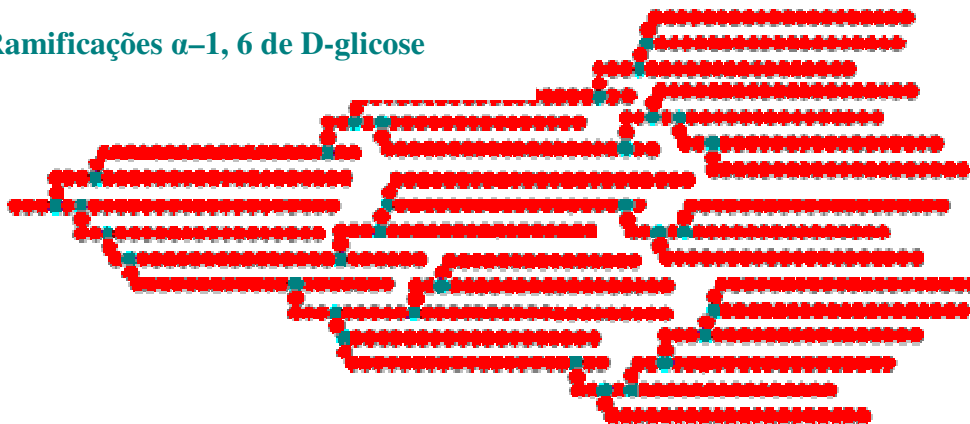


Figura 5 Estrutura representativa da amilopectina.

Fonte: <http://www.lsbu.ac.uk/water/molecule.htm>

Os cromatogramas obtidos por SEC das amilopectinas desramificadas com isoamilase mostram distribuições bimodais das frações que contêm cadeias longas e curtas (para milho, arroz, batata) e distribuições trimodais (para trigo, mandioca). Em geral, moléculas de amilopectina de amidos do tipo A possuem cadeias mais curtas, tanto nas frações da cadeia curta e longa e, maiores conteúdos das frações de cadeia curta do que as dos amidos tipo B. O comprimento da cadeia da amilopectina do amido tipo C foi intermediário e, segundo o autor, estes amidos obtêm o tipo de estrutura cristalina dependendo da temperatura ambiente e de outros fatores, enquanto amidos tipo A e B são insensíveis à temperatura (HIZUKURI, 1985).

A relação entre a estrutura molecular da amilopectina com a estrutura cristalina do grânulo de amido foi analisada por Hizukuri (1985). Os pesos médios das cadeias das amilopectinas dos amidos tipo A, B, C foram de 23 a 29 (valor médio de 26), 30 a 44 (valor médio de 36) e 26 a 29 (valor médio de 28), respectivamente.

Os arranjos moleculares dos grânulos dos amidos são classificados segundo o padrão de difração de raios X em três tipos A, B e C. Esta variação de cristalinidade é específica para diferentes fontes botânicas e depende do comprimento da cadeia de amilopectina, onde os amidos tipo A apresentam amilopectinas menores do que os do tipo B (HIZUKURI, 1985).

A amilopectina é degradada pelo uso de uma série de enzimas, tais como a β -amilase a qual ataca as extremidades não redutoras, nas ligações $\alpha - (1, 4)$ de duas em duas formando maltose. Ela degrada cerca de 55% da amilopectina, resultando maltose e grande quantidade de resíduos de β -dextrina limites. Outras duas enzimas auxiliam na determinação da estrutura da amilopectina, as pululanases e as isoamilases. Ambas hidrolisam as ligações $\alpha - (1, 6)$ e não $\alpha - (1, 4)$. As pululanases quebram cadeias de duas ou mais unidades de glicose e as isoamilases pelo menos três unidades de glicose. Estas diferentes especificidades permitem calcular a proporção de cadeias A e B (HOSENEY, 1986).

A amilopectina absorve muita água durante a cocção do amido e é a grande responsável pelo inchamento do grânulo. Portanto, amidos ricos em amilopectina são mais solúveis em água a 95 °C do que os que contêm muita amilose.

A diferença na proporção relativa entre amilose e amilopectina depende diretamente da espécie e/ou genótipo de origem e afeta as propriedades funcionais do amido (JANE, 1995).

2.2 Propriedades dos amidos

O emprego industrial de amido se deve à sua característica única tanto de poder ser usado diretamente na forma de grânulos, quanto de grânulos intumescidos, na forma dispersa, ou como filme obtido da secagem de uma dispersão ou após extrusão,

depois da conversão a uma mistura de oligossacarídeos ou a glicose, que pode ser isomerizada enzimaticamente para frutose. Dependendo do tipo, o amido pode, entre outras funções, facilitar o processamento, servir como espessante em sopas, caldos e molhos de carne, fornecer sólidos em suspensão e textura, ser ligante em embutidos de carne, estabilizante em molhos de salada, ou ainda proteger os alimentos durante o processamento (CEREDA, 2002).

Segundo Peroni (2003) e Ao e Jane (2007), as características e as propriedades físico químicas do amido nativo são dependentes da espécie e/ou das variedades de origem.

Diferenças estruturais e no comportamento reológico e físico químico de amidos de diferentes fontes botânicas são amplamente citadas. Charles et al. (2005) analisaram e observaram entre o amido de cinco cultivares de mandioca, diferenças no tamanho dos grânulos de amido, os quais variaram entre 12,9 e 17,2 μm , e nas temperaturas de gelatinização.

2.2.1 Inchamento e solubilidade do amido

De acordo com Whistler e Daniel (1993) e Hoseney (1986), os grânulos de amido intactos não são solúveis em água fria, mas eles podem reter pequenas quantidades quando colocados em água fria, ocasionando um pequeno inchamento, de forma reversível.

Entretanto, quando o amido é aquecido em excesso de água, acima da temperatura de empastamento, a estrutura cristalina é rompida devido ao relaxamento das ligações de hidrogênio e as moléculas de água interagem com os grupos hidroxilas da amilose e da amilopectina. Isso causa um aumento do tamanho dos grânulos devido ao inchamento e também ocorre solubilização parcial (HOOVER, 2001).

Os conceitos atuais consideram o grânulo de amido como um polímero vítreo, o qual existe em estado vítreo até que, por aquecimento, atinja a temperatura de transição vítrea (T_g), onde as moléculas perdem sua organização e o polímero torna-se gomoso. Quando o aquecimento atinge a temperatura de fusão (T_m), o grânulo perde completamente sua organização (Figura 6) (ROONEY; HUANG, 2001 apud SANDOVAL; SANDOVAL; QUINTERO, 2005). Ocorrem mudanças de forma irreversível no grânulo de amido, as quais podem ser interpretadas em um amilograma (HOSENEY, 1986).

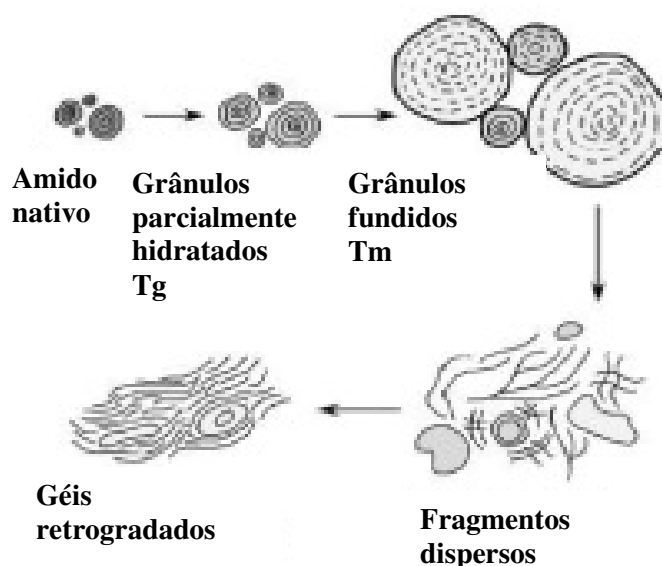


Figura 6 Representação esquemática das mudanças que ocorrem no amido durante o aquecimento em excesso de água.

Fonte: Rooney e Hung (2001) citados por Sandoval, Sandoval e Quintero (2005).

Quando a temperatura da água é aumentada, as moléculas de amido vibram vigorosamente, rompendo as ligações intermoleculares e permitindo a formação de ligações de hidrogênio com a água. A penetração da água na estrutura do grânulo e a separação progressiva de maiores segmentos de cadeias de amido aumentam ao acaso a estrutura geral e diminuem o número de regiões cristalinas (WHISTLER; DANIEL,

1993). O aquecimento contínuo, em presença de água abundante, resulta na completa perda de cristalinidade. O momento em que desaparece a birrefringência é conhecido como ponto ou temperatura de gelatinização, que normalmente ocorre dentro de uma faixa de temperatura, gelatinizando primeiramente os grânulos maiores e posteriormente os menores (WHISTLER; DANIEL, 1993).

O tamanho do grânulo afeta as propriedades físico químicas do amido, mas principalmente a composição e as estruturas químicas dos amidos granulares determinam as propriedades de pasta (AO; JANE, 2007).

Yu e Christie (2001) afirmam que os grânulos, devido à heterogeneidade dos seus cristais, não gelatinizam na mesma temperatura. Os grânulos maiores geralmente gelatinizam primeiro, portanto, a temperatura de gelatinização representa uma soma de eventos particulares e a gelatinização ocorre em uma faixa de temperatura e que há um pico claro endotérmico na temperatura na faixa entre 54 e 73°C, para diferentes amidos, e isto foi definido como temperatura de gelatinização.

A consistência da pasta de amido varia, dependendo do grau de gelatinização e do poder de intumescimento do grânulo. A textura da pasta de amido é determinada pela deformação viscoelástica e depende da força das ligações moleculares e da quantidade de grânulos rompidos (RAPAILLE; VANHEMELRIJK, 1994 apud KARAN, 2003).

Leach, Mccowen e Schoch (1959) determinaram o poder de inchamento e solubilidade de vários amidos na faixa de temperatura de 50 a 95°C a fim de estabelecer evidências do grau de associação molecular dentro do grânulo de amido. Pelos resultados obtidos, esses autores concluíram que o poder de inchamento e a solubilidade são fortemente influenciados pela fonte botânica e que de maneira geral a solubilidade e o poder de inchamento apresentam correlação positiva.

Peroni (2003) estudou o poder de inchamento e solubilidade de várias fontes de amido, nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90 °C. Os resultados obtidos na temperatura de 90 °C estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Poder de inchamento e solubilidade (a 90°C) do amido de várias fontes botânicas.

Fonte	Poder de inchamento (%)	Solubilidade (%)
Mandioca	78,33	30,47
Batata-doce	23,71	16,53
Araruta	41,06	19,47
Taro	19,03	5,91
Mandioquinha-salsa	71,00	27,07
Inhame	21,19	15,05
Biri	21,81	6,00
Açafrão	27,82	13,03
Gengibre	9,06	2,13

Fonte: Peroni (2003).

O amido de milho apresenta inchamento limitado, que ocorre em dois estágios. Isto sugere dois tipos de forças envolvidas nas interações entre as cadeias poliméricas que relaxam a diferentes temperaturas. Féculas como as de mandioca e de batata apresentam grande inchamento em temperaturas mais baixas, o que indica interações mais fracas e uniformes (MATSUGUMA et al., 2009).

2.2.2 Gelatinização do amido

O amido é amplamente utilizado para melhorar as propriedades tecnológicas em sistemas alimentícios. As características estruturais de amidos e suas propriedades térmicas e de pasta têm recebido muita atenção (PERONI, 2003).

Nas aplicações de amido no processamento de alimentos é muito comum que seja suspenso em água e submetido ao aquecimento (DAIUTO, 2005). As mudanças que ocorrem nos grânulos de amido durante a gelatinização e retrogradação são os principais determinantes do comportamento de pasta desses amidos, que têm sido medidas principalmente pela viscosidade aparente durante o aquecimento e resfriamento de dispersões de amido usando equipamentos como o viscoamilógrafo Brabender e o viscoamilógrafo rápido ou Rápido Visco Analisador (RVA) (THOMAS; ATWELL, 1999) e a Calorimetria Diferencial de Varredura (*Differential Scanning Calorimetry* - DSC) (BILIADERIS, 1992; TESTER; DEBBON, 2000).

A gelatinização de amido é o colapso do arranjo molecular, onde o grânulo sofre mudanças irreversíveis em suas propriedades de modo que ao intumescer ocorre fusão da cristalinidade nativa, perda de birrefringência e solubilização. O ponto de gelatinização inicial e a proporção sobre o qual ocorre é influenciado pela concentração de amido, método de observação, tipo de grânulo e fonte botânica (ATWELL et al., 1998; JANE et al., 1999).

Dependendo do tipo de amido (fonte botânica, amido natural ou modificado), do pH da suspensão aquosa e da programação de aquecimento, vários perfis de gelatinização e empastamento podem ser gerados (WHISTLER; BEMILLER, 1997).

Os grânulos funcionam como absorventes de diversos ingredientes e o seu maior grau de funcionalidade é obtido após o rompimento de sua estrutura (RODIS; WASSWEMN, 1993).

Para quebrar a estrutura granular é necessário o fornecimento de energia. O tipo e a quantidade de energia, assim como a presença de outros ingredientes, especialmente a água, determinará a intensidade do rompimento da estrutura granular.

O grau de rompimento da estrutura granular influencia no produto alimentar final (WANISKA; GOMES, 1992; SASAKI; YASUI; MATSUKI, 2000).

As condições de gelatinização, tais como a concentração de amido e o cisalhamento são importantes para a preparação de sistemas modelos de amido, os quais são usados para investigar diferentes aspectos de amidos em alimentos, dentre as quais, propriedades de textura, interações entre amido e outros componentes alimentares e degradação enzimática (CONDE-PETIT et al., 1988).

As características dos amidos nativos ou modificados podem ser acompanhadas através da curva de empastamento no RVA. Os parâmetros normalmente avaliados na interpretação das propriedades de pasta são: temperatura inicial de pasta - temperatura em °C onde ocorre a primeira variação na viscosidade da suspensão de amido; viscosidade máxima - valor da viscosidade máxima atingido pela pasta de amido, durante o ciclo de aquecimento; quebra - diferença de viscosidade entre o pico de viscosidade máxima e a viscosidade mínima a 95°C; viscosidade final - valor da viscosidade à temperatura final de resfriamento (50°C); retrogradação - diferença entre a viscosidade mínima a 95°C e a viscosidade final (KARAM, 2003; PERONI, 2003).

Outra propriedade relacionada a gelatinização é a retrogradação que é uma importante propriedade funcional em alimentos que contêm amido. Este atributo envolve a associação intermolecular da amilose, após ter ocorrido o empastamento, resultando em um gel firme devido à formação de zonas cristalinas durante o armazenamento (ATWELL et al., 1998; MUA; JACKSON, 1998; JANE et al., 1999).

A liberação de água ou sinerese, que ocorre após o resfriamento da pasta, em consequência da retrogradação é uma propriedade indesejável principalmente para produtos prontos como pudins, flans, entre outros (YUAN; THOMPSON, 1993; MATSUGUMA et al., 2009).

De modo geral, as raízes e tubérculos apresentam amidos com menor proporção de amilose do que a encontrada nos cereais regulares ou não cerosos. Consequentemente, os géis formados não se tornam rígidos com o avanço do resfriamento (retrogradação). No entanto, outros fatores como temperatura, tamanho e concentração dos grânulos e a presença de componentes químicos como lipídeos, podem influenciar o comportamento geral do amido (HODGE; OSMAN, 1976).

Acredita-se que a amilose é o único componente do amido que intervém na retrogradação, excluindo a contribuição da amilopectina. Estudos mais recentes mostram que sob determinadas condições experimentais, a retrogradação da amilopectina não pode ser excluída do total da fração do amido retrogradado (JAILLAIS, 2005). Em amidos de genótipos não mutantes, a amilose é responsável por mudanças no gel do amido em menos de 24 horas. A amilopectina é responsável pelas mudanças estruturais e reológicas na pasta de amido em períodos mais longos. A quantidade de água no gel e a temperatura de estocagem podem afetar a velocidade e a extensão da retrogradação (NAVVARO; MARTINO; ZARITZKY, 1996; LIU; THOMPSON, 1998). Quanto maior a quantidade de cadeias longas da amilopectina, maior será a dureza do gel (LIN et al., 2002).

Silva et al., (2006) concluíram que os amidos de mandioca e de milho ceroso são mais resistentes a ciclos de congelamento e descongelamento em comparação ao amido de milho regular, e que esta característica é muito importante para decisões da aplicabilidade tecnológica na indústria alimentícia.

2.3 Técnicas para o estudo das propriedades do amido

Dentre as inúmeras técnicas existentes utilizadas para o estudo de amidos serão apresentadas a viscosimetria, microscopia, difração de raios X, espectroscopia na região do infravermelho e análise térmica.

2.3.1 Viscosimetria

A viscosidade é uma das formas mais simples e a medida física mais usada para fornecer informações sobre os polímeros em solução. A solubilidade de polímeros é útil; primeiro, porque fornece a relação da viscosidade intrínseca com a massa molecular e, segundo, pela relação com a conformação dos polímeros, interação entre polímero e solvente e o grau de permeabilidade do polímero no solvente (MOREIRA; SILVA; WANG, 2004).

Existem vários métodos para medir a viscosidade de sólidos e líquidos. As medidas de viscosidade de líquidos em geral são bastante simples e as mais comuns são medidas baseadas na resistência ao fluxo através de um capilar, medidas baseadas na rotação de um cilindro concêntrico imerso no líquido e medidas baseadas na retenção do tempo de queda de uma esfera através de um líquido viscoso.

Existem vários tipos de viscosímetros capilares (Figura 7) e o viscosímetro de Ostwald é o mais simples de todos. A pressão exercida sobre o fluido fazendo com que ocorra o fluxo capilar é proporcional a diferença de altura dos dois níveis e a densidade do fluido. É necessário usar exatamente o mesmo volume de solução para todas as medidas para garantir a reprodutibilidade.

A viscosidade, representada pela letra grega η , pode ser considerada como a medida da resistência de um material a fluidez. A unidade de viscosidade no sistema CGS é Poise, que corresponde a dina.s.cm^{-2} e no sistema SI é Pascal (Pas) e corresponde a N.s.m^{-2} . A relação entre as duas unidades é $10 \text{ Poise} = 1 \text{ Pas}$.

Os valores de viscosidade variam amplamente com a temperatura e diminuem à medida que a temperatura aumenta. A viscosimetria de soluções diluídas nos dá a medida quantitativa da contribuição do aumento da viscosidade do solvente pela presença das partículas isoladas do soluto (partícula hidrodinâmica). Quando o soluto é

polimérico, tais medidas permitem obter informações a respeito das dimensões da cadeia, formato e tamanho da partícula do polímero (volume hidrodinâmico), e de sua massa molecular (MOREIRA SILVA; WANG, 2004; PINTO, 2008).

Os polímeros, diferentemente das moléculas pequenas, não têm uma massa molecular única, com exceção do DNA (PINTO, 2008).

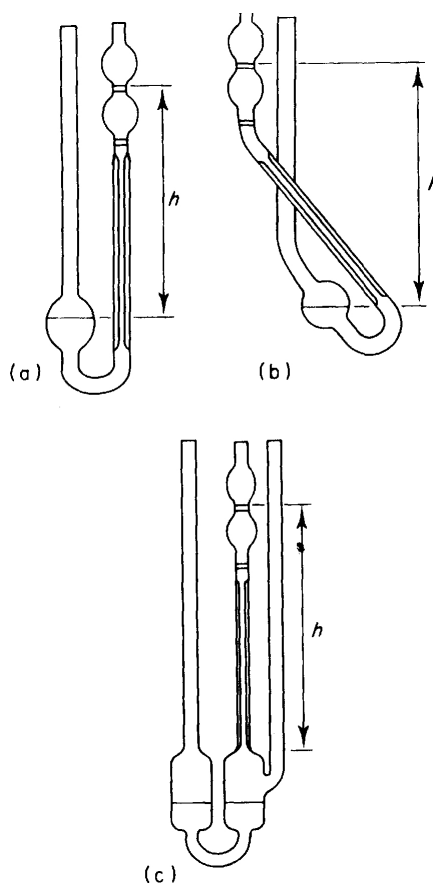


Figura 7 Tipos de viscosímetros capilares: (a) Viscosímetro de Ostwald, (b) Viscosímetro de Cannon-Fenske, (c) Viscosímetro de Ubbelohde.

Fonte: Pinto (2008).

A viscosidade intrínseca é essencialmente uma medida da fricção interna ou resistência ao deslocamento de moléculas poliméricas em solução, que se utilizada adequadamente, pode fornecer um excelente critério de tamanho molecular relativo (ISLAM et al., 2001).

A viscosidade intrínseca se relaciona com a massa molecular de um polímero pela Equação de Mark-Houwink: $[\eta] = KM^\alpha$, onde, K e α são constantes que dependem do polímero, do solvente e da temperatura e são calculadas através de medidas viscosimétricas de diversas frações monodispersas de um determinado polímero. Os valores de K e α podem ser obtidos de tabelas (MOREIRA SILVA; WANG, 2004; PINTO, 2008).

A viscosidade intrínseca é obtida pela extrapolação gráfica da relação da viscosidade relativa com a concentração. Sua unidade é cm^3/g (CGI) ou m^3/Kg (SI). A viscosidade intrínseca depende da massa molecular e da interação entre os segmentos do polímero e das moléculas do solvente (PINTO, 2008).

Dentre os polissacarídeos existentes, há aqueles importantes para a indústria de alimentos e outros ramos. Todas as aplicações dependem das propriedades fornecidas pela elevada massa molecular em vários estados de hidratação e, principalmente pelas propriedades conferidas às soluções e géis. A utilização desses polissacarídeos, nesta área deve-se principalmente ao fato de possibilitarem o controle reológico de fases aquosas, aliado à ampla disponibilidade, custos relativamente baixos (menores do que os polímeros sintéticos) e baixa toxicidade em sua utilização (WHISTLER; DANIEL 1993).

2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura

O exame microscópico dos grânulos fornece informações sobre a origem dos amidos contribuindo para sua caracterização (ELLIS et al., 1998; FREITAS et al., 2004).

Os microscópios são basicamente de duas categorias: luminoso (ML) e eletrônico (ME). As diferenças estão na radiação utilizada e na maneira como ela é

refratada. Cada tipo de microscópio e cada técnica de preparação de material para exame oferecem vantagens específicas na demonstração de certos elementos morfológicos (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

Na microscopia eletrônica, a radiação empregada é a de feixe de elétrons, sendo ele refratado por meio de lentes eletrônicas. O microscópio eletrônico produz aumentos úteis de 200.000 a 400.000 vezes, sendo seu poder de resolução cerca de 100 vezes maior que o do microscópio de luz e classifica-se em dois tipos: de transmissão e de varredura (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é um equipamento versátil que permite a obtenção de informações microestruturais de objetos sólidos (NAGATANI et al., 1987 citado por DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007), o qual fornece com rapidez informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida. É utilizado comumente em biologia, odontologia, farmácia, engenharia, química, metalurgia, física, medicina e geologia. Também apresenta outra importante característica que é a aparência tridimensional da imagem (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

O aumento máximo conseguido pelo MEV fica entre o microscópio óptico (MO) e o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). A grande vantagem do MEV em relação ao microscópio óptico é sua alta resolução, na ordem de 2 a 5 nm (20 a 50 \AA) - atualmente existem instrumentos com até 1 nm (10 \AA) - enquanto que no óptico é de 0,5 μm . A grande vantagem do MEV sobre o MET está na facilidade de preparação das amostras (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007; MALISKA, 2009).

Os principais componentes do MEV são a coluna, com o canhão eletrônico e a série de lentes eletrônicas, e o sistema de alto vácuo (Figura 8). A imagem pode ser

observada diretamente, ou fotografada e pode ser operado em uma escala ampla de aumentos, desde 10 até 100.000 vezes, a topografia superficial de objetos sólidos pode ser examinada com grande facilidade e as micrografias têm aspecto tridimensional (GALLETI, 2003). Apesar da complexidade dos mecanismos para a obtenção da imagem, o resultado é uma imagem de muito fácil interpretação (MALISKA, 2009).

A resolução obtida com o MEV depende de uma série de fatores, sendo o mais importante o diâmetro da sonda do feixe eletrônico varrendo a amostra, mas a natureza da amostra e a interação desta com o feixe também são importantes, bem como a velocidade de varredura e o número de linhas na imagem. É ideal para estudar a topografia de superfície de objetos sólidos, mas fornece pouca, ou nenhuma informação sobre a estrutura interna (GALLETI, 2003).

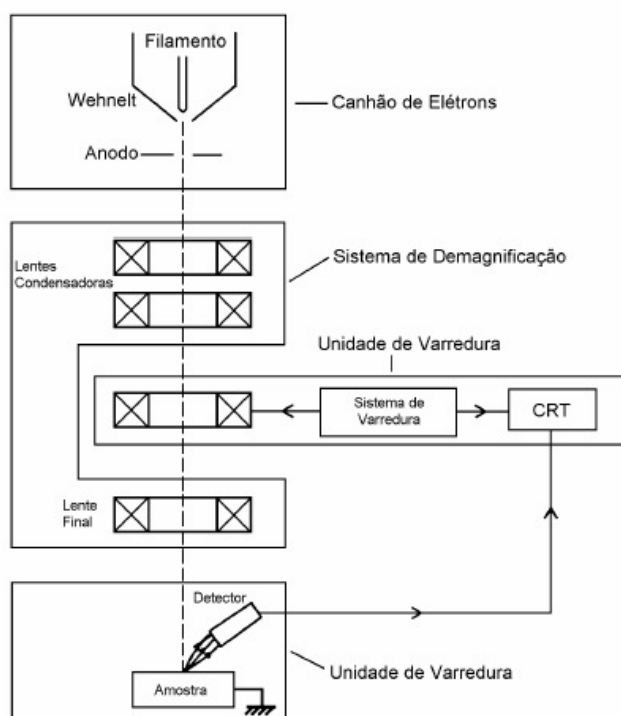


Figura 8 Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

Fonte: http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV_index.htm.

A microscopia eletrônica de varredura é amplamente utilizada para visualização de mudanças que ocorrem na estrutura dos grânulos de amido durante um processo químico. Também o diâmetro e a forma dos grânulos podem ser obtidos pela técnica (SEGURA; SIRA, 2003).

2.3.3 Microscopia de fluorescência

Microscopia de fluorescência é utilizada principalmente para a identificação, localização e quantificação de substâncias específicas e estruturas fluorescentes (FULCHER, IRVING; FRANCISCO, 1989). As técnicas de microscopia de fluorescência são úteis para exibir estruturas e mensurar eventos fisiológicos e bioquímicos nas células vivas (PARKKONEN; HEINONEN; AUTIO, 1997; PETERSON; WORD, 1997).

A epifluorescência é um conjunto de óptica para um microscópio fluorescente no qual a objetiva é usada tanto para focalizar a luz ultravioleta sobre a amostra, quanto para captar a luz fluorescente da amostra. Ela é mais eficiente do que a fluorescência transmitida, na qual uma lente ou condensador é empregado para focalizar a luz ultravioleta no espécime (LICHTMAN; CONCHELLO, 2005; FREUDENRICH, 2009).

Os corantes usados produzem fluorescência em condições específicas, quando se associam com componentes celulares como, por exemplo, DNA ou RNA. Os fluorocromos absorvem a luz de um determinado comprimento de onda e emitem luz em outro comprimento maior, fazendo com que o componente apareça brilhante sobre um fundo escuro (COLEMAN, 1980; PORTER E FEIG 1980; SIERACKI E VILES 1992; SUSUKI, 1993 apud LA TORRE, 2008).

Existem alguns componentes de origem vegetal e animal que emitem fluorescência natural, também chamada de primária ou autofluorescência (MUNCK, 1989; HEALTH, 2000).

De acordo com Freudenrich (2009) para identificação de fluorescência primária em amostras de amido, estas devem ser examinadas em microscópio de epifluorescência equipado com filtros de excitação de 365, 450-490 e 546 nm e filtros de barreira complementares de >418, >520 e >590 nm, respectivamente.

Para os constituintes celulares que não apresentam fluorescência natural é necessário adicionar fluorocromos específicos, os quais se ligam em áreas específicas da amostra que induzem a fluorescência chamada fluorescência secundária (MUNCK, 1989; HEALTH, 2000)

Para a visualização da fluorescência secundária são utilizados os fluorocromos, tais como calcofluor específicos para paredes celulares ou β -glucanas (PARKKONEN; HEINONEN; AUTIO, 1997), ANS para proteínas, azul de Nilo (PETERSON; WORD, 1997) para ésteres de colesterol, ácidos graxos e fosfolipídeos; laranja de acridina, para amidos e pectina; ácido bórico para flavonóides; acriflavina-HCl para fitatos entre outros (KALÁB; ALLAN-WOJTAS; MILLER, 1995).

A concentração da substância fluorescente, a decomposição fotoquímica, a perda de intensidade com o tempo, o pH das soluções, a polaridade dos solventes usados e a estrutura química da amostra são alguns dos fatores que podem afetar a fluorescência da amostra (FULCHER; IRVING; FRANCISCO, 1989).

2.3.4 Difração de raios X

Raios X, assim como a luz visível (faixa de comprimento de onda de 4000 (violeta) até 7000Å (vermelho)) é uma radiação eletromagnética de comprimento de

onda entre $\sim 10^{-1}\text{m}$ e $\sim 10^{-7}\text{m}$ (ou de 0,5 até 2,5 Å) (MEDEIROS, 2004; SARAVIA; HAMAGUCHI; ONO, 2006).

Difração de Raios X é o fenômeno que ocorre com as ondas quando elas passam por um orifício ou contornam um objeto cuja dimensão é da mesma grandeza que o seu comprimento de onda (SANTOS, 2002; MEDEIROS, 2004).

A difração de raios X pode gerar informações valiosas sobre as características da estrutura de um composto (JEFFREY et al., 1992; SANTOS, 2002; MEDEIROS, 2004).

Sendo o comprimento de onda dos raios X muito baixo, a difração só é notável e importante quando eles são difratados pelos átomos de uma rede cristalina. Na verdade, este fenômeno é uma superposição complicada de efeitos de espalhamento e de interferência (ZACHARIASEN, 1967).

A Figura 9 ilustra o arranjo experimental onde um feixe de raios X incide sobre um conjunto de planos cristalinos, cuja distância interplanar é d . O ângulo de incidência é θ . Os feixes refletidos por dois planos subsequentes apresentarão o fenômeno de difração. Isto é, se a diferença entre seus caminhos ópticos for um número inteiro de comprimentos de onda, haverá superposição construtiva (um feixe de raios X será observado); caso contrário haverá superposição destrutiva e não se observará qualquer sinal de raios X. Os raios são difratados por um cristal porque os elétrons dos seus átomos absorvem a radiação e, então, servem como fontes secundárias que reemitem radiações em todas as direções. As ondas reemitidas reforçam-se mutuamente em algumas direções e se cancelam em outras (MIGUEL, 2004; MAGALHÃES; PEREIRA; XIMENES, 2007).

Os raios X de comprimento de onda bem determinados (produzidos por um tubo de raios X e selecionados por difração) são usados em análises de cristais.

Quando este feixe definido difrata em um cristal desconhecido, a medida dos ângulos de difração dos raios emergentes pode elucidar a distância dos átomos no cristal e, conseqüentemente, a estrutura cristalina (SANTOS, 2002).

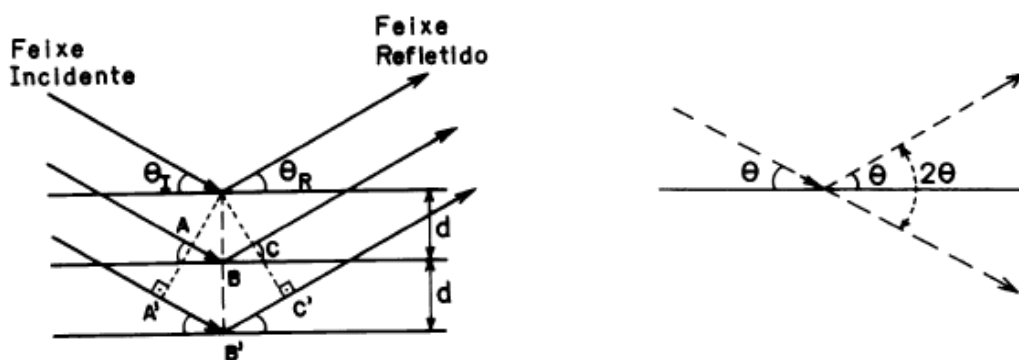


Figura 9 Esquema mostrando os raios incidentes e “refletidos” por planos cristalinos de espaçamento d .

Fonte: Magalhães, Pereira, Ximenes, 2007.

Graças ao desenvolvimento de novos tipos de aparelhos e equipamentos portáteis, este método vem sendo utilizado com maior frequência (SOUZA; WEIDLICH, 2006).

No meio científico, os raios X são utilizados em diversas áreas com várias finalidades, entre elas na cristalografia, onde se estuda a estrutura interna dos materiais através da difração dos raios X (CRAIEVICH; RODRIGUES; SILVA, 1998).

Quando um cristal é irradiado com raios X, os raios se dividem para formar um padrão distinto para a estrutura do cristal. Esta técnica é usada para estudar a natureza cristalina do amido (Figura 10). Por esse método foram identificados três padrões gerais de difração de raios X em amido nativo, tipo A, B e C. Amidos de cereais geram padrão tipo A, tuberosas geram padrão tipo B e o padrão tipo C que seria um mistura dos padrões A e B (THOMAS; ATWELL, 1999).

Segundo Zambrano, Camargo, Tavares (2001) os padrões de difração de raios X auxiliam na identificação de amidos naturais e no estudo da fração cristalina no grânulo de amido.

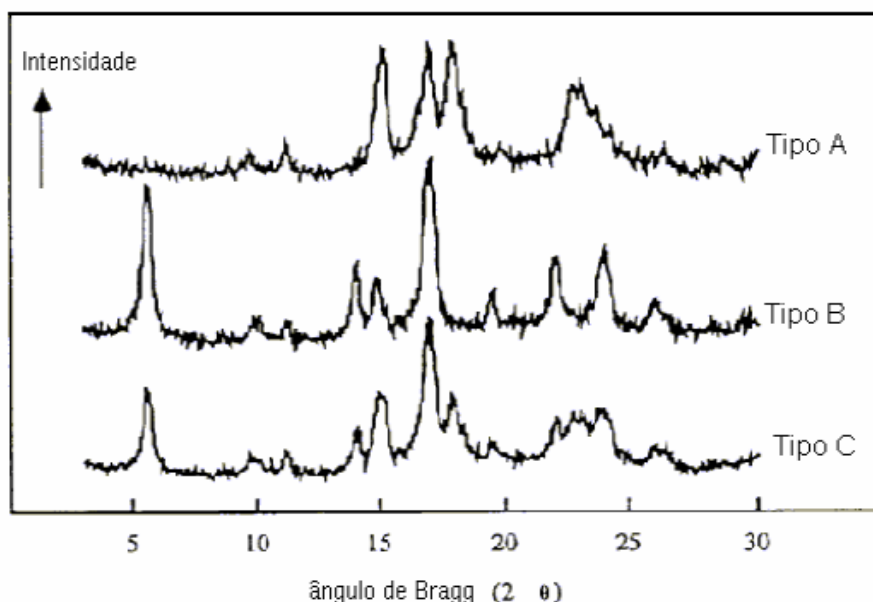


Figura 10 Diagrama de difração de raios X de amidos de cristalinidade tipo A, B e C.

Fonte: Bertolini (1995) apud Vieira, 2004.

As estruturas cristalinas e não-cristalinas do amido e a relação entre elas que são determinantes nas propriedades do amido, são estudadas por técnicas de difração de raios X (SEGURA; SIRA, 2003).

Os difratogramas de raios X são realizados utilizando um monocromador de LiF (fluoreto de lítio), utilizando radiação de cobre, velocidade de varredura de 1° por minuto, em condições de trabalho de 30 – 50 Kv e 20 – 100 mA.

O grau de cristalinidade relativa de amidos nativos varia de 15 a 45% (CHEETHAM; TAO, 1998), dependendo da espécie vegetal e vários são os métodos utilizados para a sua avaliação (Tabela 4).

O índice de cristalinidade relativa (IC) dos amidos é quantitativamente determinado traçando no difractograma uma linha na base dos picos principais

conforme proposto por Hayakawa et al. (1997) e é definido como a razão entre a área da região cristalina e a área total coberta pela curva, composta pela área da região cristalina e a área da região amorfa (ROCHA; DEMIATE; FRANCO, 2008).

Tabela 4 Grau de cristalinidade relativa (%) de diferentes amidos determinados por hidrólise ácida, difração de raios X e RMN- ^{13}C (Ressonância Magnética Nuclear).

Amido	Hidrólise ácida	Difração de raios X	RMN - ^{13}C
Tipo A			
Milho normal	18,1 a 27,0	38 a 43	42 a 43
Milho waxy	19,7 a 28,0	38 a 48	48 a 53
Milho alto teor amilose	18,1	25	38
Trigo	20,0 a 27,4	36 a 39	39
Arroz		38 a 39	49
Tipo B			
Batata	18,1 a 24,0	25 a 40	40 a 50
Mandioca	24,0	24	44

Fonte: Buléon et al., 1998.

2.3.5 Espectroscopia de infravermelho

A região de infravermelho (*infrared*, IR) do espectro eletromagnético corresponde a região de comprimento de onda de 0,78 a 1000 μm ou número de onda de 12.800 a 10 cm^{-1} (unidade usual), sendo útil em estudos envolvendo rotação e vibração de moléculas. Do ponto de vista de aplicação e instrumentação, a região de infravermelho é dividida em três regiões distintas: *near infrared* (próximo – 12.800 a 4.000 cm^{-1}), *mid infrared* (médio – 4.000 a 200 cm^{-1}) e *far infrared* (distante – 200 a 10 cm^{-1}) (RIBEIRO et al. 2003).

A região do infravermelho próximo é utilizada para análise quantitativa de materiais sólidos, líquidos e misturas gasosas, enquanto que a do infravermelho médio, além de ser utilizada na análise quantitativa de complexos gasosos, líquidos ou

misturas sólidas, também é utilizada na determinação qualitativa de sólidos, líquidos ou gases. A região do infravermelho distante é utilizada na análise qualitativa de compostos inorgânicos ou espécies organometálicas (RIBEIRO et al., 2003).

A espectroscopia no infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados de níveis vibracionais). Tais frequências dependem da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do acoplamento vibrônico (ALCÂNTARA, 2002).

Para fazer medidas em uma amostra, um raio monocromático de luz infravermelha é passado pela amostra, e a quantidade de energia absorvida é registrada. Repetindo-se esta operação ao longo de uma faixa de comprimentos de onda de interesse (normalmente 4000 a 400 cm^{-1}) um gráfico pode ser construído possibilitando identificar informações dessa substância (ALCÂNTARA, 2002).

A espectroscopia no infravermelho é largamente usada tanto na indústria quanto na pesquisa científica, pois ela é uma técnica rápida e confiável para medidas, controle de qualidade e análises dinâmicas. Atualmente os instrumentos são pequenos, e podem ser transportados, mesmo para medidas de campo. Com a crescente tecnologia em filtração computacional e manipulação de resultados, hoje as amostras em solução podem ser medidas com precisão (a água produz uma banda larga de absorbância na faixa de interesse o que daria um espectro ilegível sem esse tratamento computacional) (ALCÂNTARA, 2002).

2.3.5.1 Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma

técnica de análise para obter o espectro infravermelho mais rapidamente. Os dados não são coletados variando-se a frequência da luz infravermelha monocromática, e sim a luz IR (com todos os comprimentos de onda da faixa usada) guiada através de um interferômetro. Depois de passar pela amostra o sinal medido é o interferograma. Realizando uma transformada de Fourier no sinal, o resultado será um espectro idêntico ao da espectroscopia IR convencional (dispersiva) (FERREIRA, 2008; ALCÂNTARA, 2002).

Também a medida de um único espectro é bem mais rápida nessa técnica, porque as informações de todas as frequências são coletadas simultaneamente e isso permite que se façam múltiplas leituras de uma mesma amostra e se tire a média delas, aumentando assim a sensibilidade da análise. Devido às suas várias vantagens, virtualmente todos os espectrofotômetros de infravermelho modernos são de FTIR (DIAS, 1986; ALCÂNTARA, 2002).

Um espectro é uma espécie de impressão digital de um composto químico, pois cada composto difere de outro em função da composição química e da geometria molecular (OLIVEIRA, 2001).

Segundo Mrozek e Weaver (2002) os espectros vibracionais de carboidratos são divididos em regiões atribuídas a modos vibracionais específicos (Tabela 5).

Tabela 5 Resumo das regiões espectrais em função dos modos vibracionais

Região espectral (cm⁻¹)	Modo vibracional
3600 a 2800	Estiramento de ligações CH ou OH
1500 a 1200	Deformações de ligações HCH e CH ₂ OH
1200 a 950	Estiramento de ligações C-O, com contribuições de ligações C-C
950 a 700	Deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH contendo “impressão digital” e estiramentos de ligações C-C
700 a 500	Região do esqueleto da molécula contendo deformações exocíclicas
Abaixo de 500	Região do esqueleto da molécula contendo deformações endocíclicas

Fonte: Mrozek e Weaver (2002).

As diferentes faixas de energia, associadas aos grupos orgânicos ativos no infravermelho estão mostradas nas Figura 11.

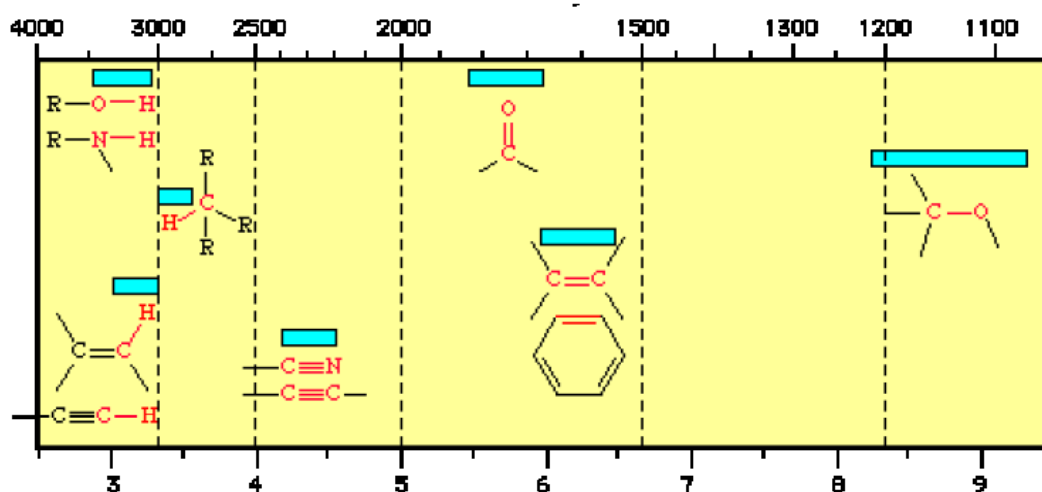


Figura 11 Faixa de energia de grupos funcionais orgânicos ativos no infravermelho.

Fonte: <http://www.biomaterial.com.br/capitulo7part03.pdf>

O interferograma (Figura 12) é formado pela soma de todas as ondas de diferentes amplitudes e frequências que chegam ao interferômetro e possui todas as informações espectrais da amostra (DIAS, 1986; ALCÂNTARA, 2002; FERREIRA, 2008). Apesar do interferograma conter toda a informação fornecida pelo espectrômetro sob um dado conjunto de condições, a forma com que essa informação se apresenta não é muito útil. Essa informação é convertida em espectro, relacionando-se as intensidades com as respectivas frequências, através da transformada de Fourier.

A análise de amidos por espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR) tem sido associada à quimiometria para caracterização de diferenças estruturais em amidos quimicamente modificados.

A espectroscopia FTIR é uma técnica acessível e quando seus resultados são explorados adequadamente fornece informações estruturais importantes que somente poderiam ser obtidas com outras técnicas de custos mais elevados tais como ressonância magnética nuclear (RMN) (TAKIZAWA et al., 2002).

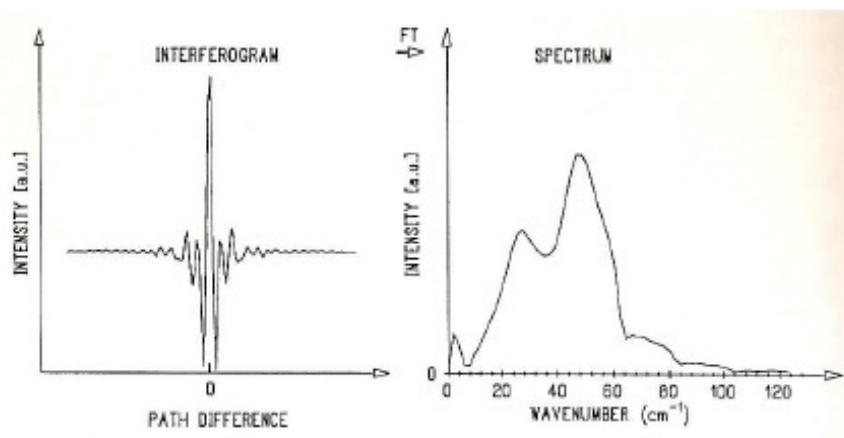


Figura 12 Interferograma típico obtido por um espectro no infravermelho por transformada de Fourier e o espectro correspondente.

Fonte: Harbecke et al. citado por Ferreira (2008).

A espectroscopia de FTIR tem sido sugerida para amidos como uma técnica adequada para estimar o grau de substituição de vários métodos de modificação de amido (FORREST; COVE, 1992).

Silva et al. (2006) realizaram a análise de espectroscopia de FTIR de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil e encontraram picos na região próxima a 1730 cm^{-1} , o que pode ser atribuído à presença de grupos carbonilas, inexistentes no amido nativo.

Demiante et al. (2000), citando Sekkal (1990) afirmam que a região de 1600 cm^{-1} está positivamente correlacionada com as propriedades de expansão, correspondendo ao grupo carboxila, enquanto a banda espectral de 1060 cm^{-1} , corresponde aos grupos C-O, esta banda pode ser atribuída a vibração dos grupos C-O no carbono 1 e o oxigênio 5 da parte cíclica da glicose e está inversamente relacionada com as propriedades panificáveis. Portanto, de acordo com estes autores, o surgimento dos grupos carboxilas, como consequência de degradações oxidativas da glicose, contribuem para as propriedades panificáveis do polvilho azedo.

Demiate et al. (2000), Domaltova et al. (1998), Dupuy et al (1997) relataram o uso de espectroscopia no infravermelho médio como forma de obter a separação entre as classes dos amidos. Essa técnica tem se mostrado útil, sobretudo em indicar alterações na rede cristalina, permitindo uma separação rápida dos amidos nativos e modificados.

2.3.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma análise térmica que tem permitido identificar em um sistema composto de amido e água as transições e modificações da estrutura do grânulo de amido, verificar a associação de fragmentos de amilose e amilopectina (retrogradação) e identificar as trocas em suas características térmicas como consequência de tratamentos combinados de calor e umidade (SANDOVAL; SANDOVAL; QUINTERO, 2005).

Esta análise tem sido amplamente utilizada como técnica de caracterização de amidos de diferentes origens, submetidos a distintos tratamentos, a qual oferece rapidez, exatidão e quantidade mínima de amostra para a realização das análises (SANDOVAL; SANDOVAL; QUINTERO, 2005). Segundo Krieger et al. (1997), as propriedades térmicas de amidos podem ajudar a determinar sua funcionalidade específica e, portanto, sua utilidade na indústria de alimentos.

Há dois tipos de sistemas de DSC mais comumente usados sendo o primeiro denominado de DSC de compensação de energia e o segundo de DSC de fluxo de calor.

No DSC por compensação de energia, a amostra e a referência são colocadas em compartimentos diferentes com fontes de aquecimento individuais, onde a temperatura e a energia são monitoradas e geradas por filamentos de platina idênticos,

atuando assim como termômetros resistivos e aquecedores (SANDOVAL; SANDOVAL; QUINTERO, 2005; WENDHAUSEN; RODRIGUES; MARCHETTO, 2007).

O DSC de fluxo de calor utiliza apenas um forno e os cadinhos são dispostos sobre uma base de um metal altamente condutor, geralmente platina. A amostra e a referência são aquecidas pelo mesmo sistema de fornecimento de energia. Cada vez que a amostra sofre transformação em sua estrutura um fluxo de energia se estabelece entre os cadinhos através da base de platina. Os dados na forma de potencial elétrico [μV] correspondente ao aumento da temperatura de ambos os cadinhos no interior do forno devem aumentar linear e simetricamente. O fluxo é medido através dos sensores de temperatura, posicionados sob cada cadinho, obtendo assim um sinal proporcional à diferença de capacidade térmica entre a amostra e a referência (TURI, 1997; WENDHAUSEN; RODRIGUES; MARCHETTO, 2007).

Nos dois tipos de DSC os equipamentos são capazes de fornecer dados com uma precisão de 1 a 2 % em processos envolvendo entalpia. Os equipamentos de compensação de energia são limitados a temperaturas de até 725°C, enquanto os de fluxo de calor podem operar até 1500°C. O registro gráfico (Figura 13), em ambas as técnicas, são expressos em temperatura ou tempo (°C, min) no eixo x e em fluxo de calor (mW/mg) no eixo y (WENDHAUSEN; RODRIGUES; MARCHETTO, 2007).

A calibração do aparelho é feita com um metal de alta pureza, com sua entalpia e ponto de fusão conhecidos. Geralmente utiliza-se o Índio ($\Delta H_{\text{fusão}} = 28,55 \text{ J/g}$ e p.f = 429,8K) (SANDOVAL; SANDOVAL; QUINTERO, 2005).

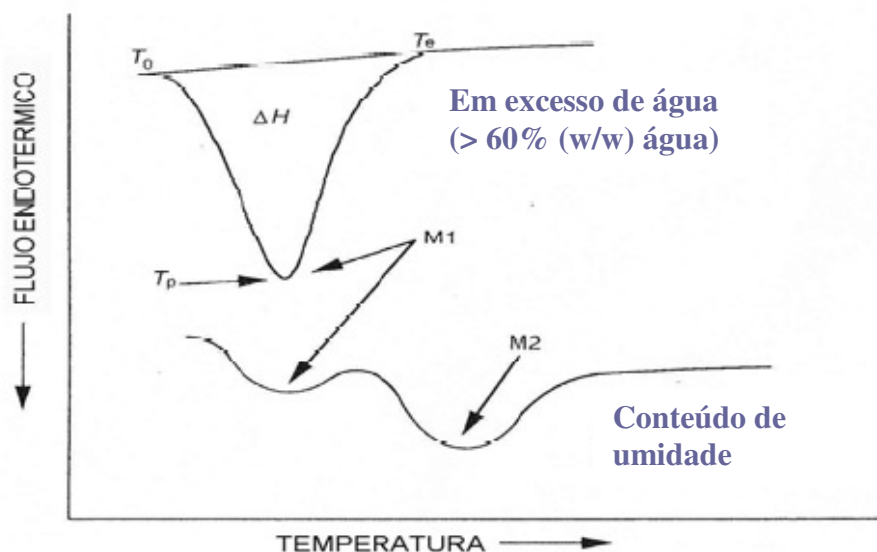


Figura 13 Representação esquemática de termogramas de DSC

Fonte: Tester e Debon, 2000 apud Sandoval, Sandoval e Quintero, 2005.

Transições de primeira ordem (endotérmicas ou exotérmicas) são caracterizadas como picos, mesmo que eles possam sobrepujar um ao outro. A área do pico diretamente sob a curva mW/mg é proporcional a entalpia ΔH envolvida no processo endotérmico / exotérmico, expresso em kJ/kg, ou, J/g (TURI, 1997; WENDHAUSEN; RODRIGUES; MARCHETTO, 2007).

A calorimetria diferencial é uma análise térmica que permite obter dados de entalpia e temperaturas de transição ou de reação, em função da temperatura de aquecimento. As transições de fase do amido observados no DSC dependem do conteúdo de umidade, pois em excesso de água a gelatinização completa se apresenta em uma determinada faixa de temperatura. A transição vítrea que é um fenômeno das regiões amorfas do grânulo de amido, no DSC, apresenta-se como um aumento na capacidade calorífica da amostra (BHADESHIA, 2002; TURI, 1997).

Charles et al. (2005) analisando temperatura de gelatinização de diferentes amostras de amidos observaram que T_0 (temperatura inicial de pasta) variou entre

59,7 e 64,4°C, T_p (temperatura do pico de viscosidade máxima) entre 71,6 e 75,7°C e ΔH entre 12,8–13,7 J.g⁻¹ e que as temperaturas de gelatinização aumentaram linearmente com a diminuição do tamanho das moléculas.

2.4 A mandioca como fonte de amido

A mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) (Figura 14) é um importante alimento e fonte de calorias para uma grande parte da população em países da Ásia, África e América Latina, sendo considerada um alimento básico para aproximadamente 700 milhões de pessoas no mundo (EDIJALA et al., 1999; SAGRILO et al., 2001; AMPE; SIRVENT; ZAKHIA., 2001; GUYOT e MORLON-GUYOT, 2001; PADMAJA et al., 2002; BADRIE; MELLOWES, 2002; BALAGOPALAN, 2002).

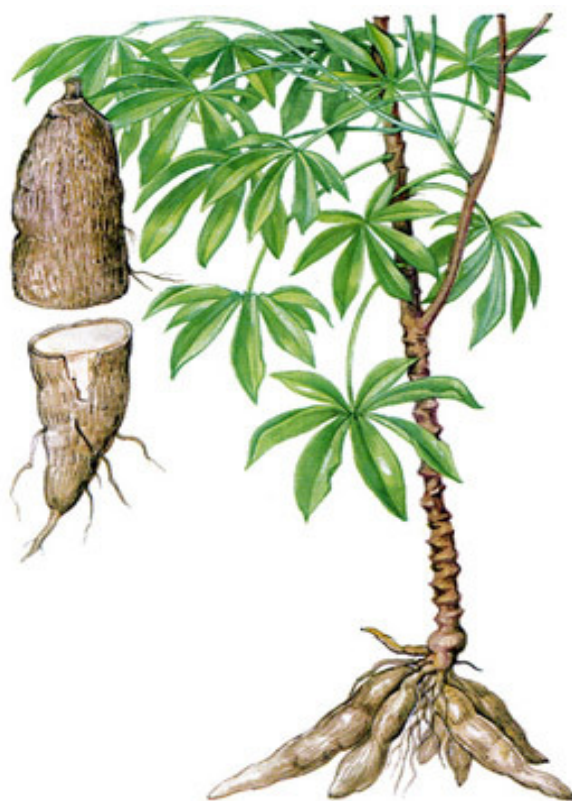


Figura 14 Ilustração da mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz)

Fonte: www.hort.purdue.edu/.../lecture_26/lec_26.html.

Também é conhecida como tapioca, aipim, macaxeira, costelinha no Brasil, como *yuca* nos países da América Latina e, como *manioc* nos países que falam francês na África (PANDEY et al., 2000).

Cerca de 60 % da mandioca produzida no mundo é utilizada para consumo humano, consumida de forma natural, farinha e fermentada como gari, fufu, etc, aproximadamente 33% para alimentação animal e 7% pelas indústrias de papel, têxtil, alimentícia e fermentação (PANDEY et al., 2000).

A planta pode ter na parte aérea de 2 a 4 m de altura, apresenta de 5 a 20 raízes as quais podem ter de 20 a 80 cm de comprimento e 5 a 10 cm de diâmetro. Cada raiz fresca pode pesar de 100 g até 5 kg. As raízes de mandioca são ricas em amido e pobres em proteína (PANDEY et al., 2000).

A cultura de mandioca apresentou nas últimas duas décadas, aumento de área plantada e da quantidade produzida em praticamente todos os países produtores, principalmente nos países africanos e asiáticos, onde essa atividade constitui uma das principais fontes energéticas de alimento, e uma das alternativas de renda para grande parte da população (VIEIRA, 2008).

A safra 2007/08, segundo estimativa da FAO, indica um aumento da produção mundial para 238,5 milhões de toneladas e área colhida de 18,6 milhões de hectares. O continente africano lidera o ranking mundial (51,7% do volume total produzido), em segundo lugar o asiático (31,4%), seguido pelo americano (16,1%), onde a Nigéria ocupa o primeiro lugar (20,5% do volume total produzido), seguido pela Tailândia (12,2%), Brasil (11,0%) (perde a segunda posição).

A safra brasileira 2007/08 colheu 1,860 milhões de hectares e obteve 26,337 milhões de toneladas. A Região Nordeste maior produtora nacional, com 37,5%, seguida pelas regiões: Norte, 27,6%; Sul, 19,9%; Sudeste, 8,9% e Centro-Oeste, 6,1%.

As vendas brasileiras, para o mercado externo, de fécula in natura, dextrinas, colas dentre outros produtos deverão crescer. No segmento de fécula, apesar de persistir uma forte concorrência com os preços do amido de milho, uma melhor organização dos setores de produção e de comercialização permite estabilidade nas vendas e no volume de negócios realizados, já no de polvilho as opções criadas a partir de seus subprodutos (pão de queijo, beiju, rosca, bolacha palito, cuscuz e broa) promoveram aumento nas vendas (VIEIRA, 2009).

Em Santa Catarina as estimativas da safra 2008/09 de mandioca para o mês de junho (IBGE - LSPA, junho de 2009), deverão atingir um volume de 559,2 mil toneladas; aproximadamente 31,4 mil hectares de área colhida e o rendimento médio de 17.822 quilos por hectare. Nas principais regiões produtoras do Estado, a ocorrência de fatores climáticos adversos influenciou de forma negativa o rendimento médio da cultura. A falta de capital de giro para investir no processo produtivo e o pouco uso de tecnologia por alguns produtores são fatores que têm contribuído para o baixo desempenho da lavoura em nosso estado (VIEIRA, 2009).

O amido é a substância de reserva das raízes de mandioca com teores que variam entre 20 e 30% na matéria úmida e cerca de 80 a 90% na matéria seca (VILELA; FERREIRA, 1987). O mercado de amidos vem crescendo e se aperfeiçoando nos últimos anos, levando à busca de produtos com características específicas que atendam às exigências da indústria (LEONEL; JACKEY; CEREDA, 1998; TAKIZAWA et al., 2004). A biotecnologia tem ampliado o foco de aplicação da mandioca e seu amido (PANDEY et al., 2000).

De acordo com a Instrução Normativa nº. 23 de 14 de dezembro de 2005 – Normas de Classificações de Produtos Amiláceos, o amido de mandioca é a substância amilácea extraída das raízes de mandioca, obtida por decantação, centrifugação ou

outros processos tecnológicos adequados (BRASIL, 2005). No Brasil, o amido de raízes e tubérculos recebe a denominação de fécula. Também conhecido como polvilho doce e é utilizado como matéria-prima para a produção de polvilho azedo e inúmeros outros produtos.

O processo de produção de amido (Figura 15) qualquer que seja a técnica empregada consiste na colheita ou recebimento das raízes, lavagem, descascamento, picagem e/ou ralação e prensagem da massa sob água corrente.

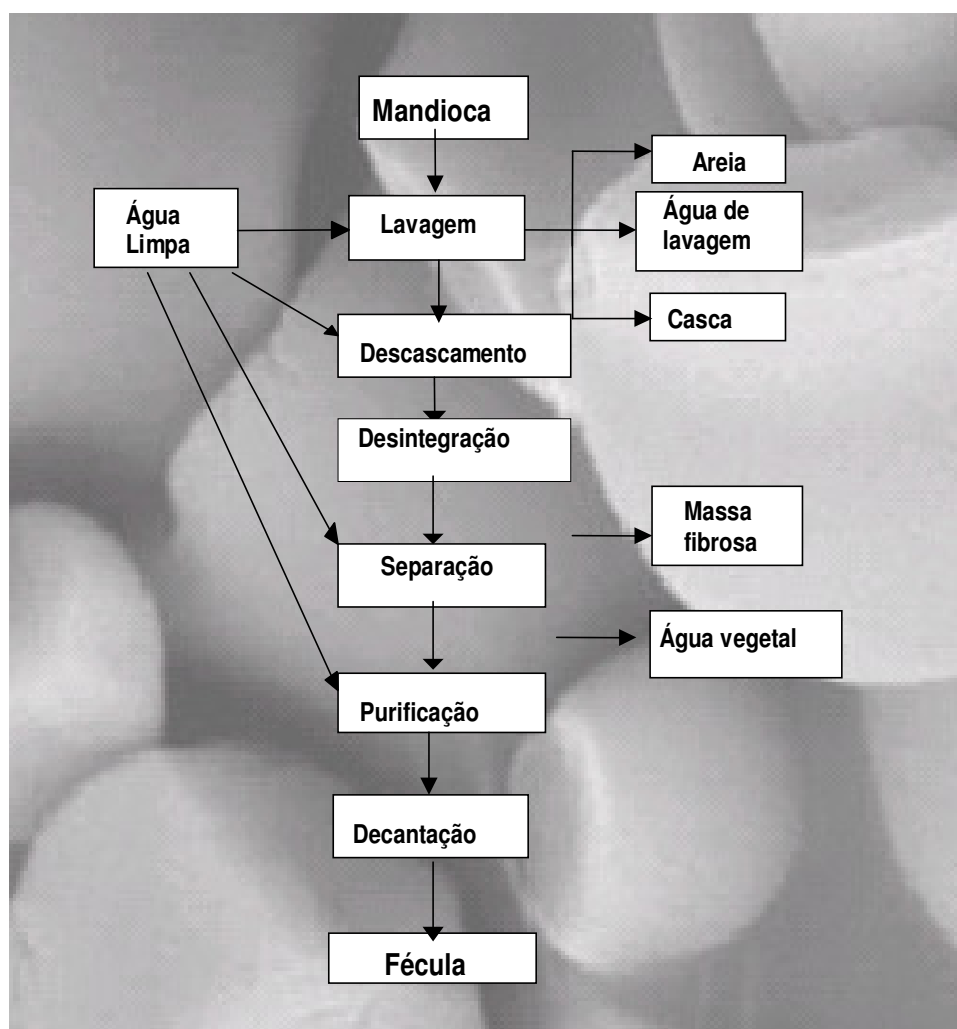


Figura 15 Fluxograma sintético do processo de produção de fécula de mandioca

Fonte: Lima (2000).

O bagaço acumulado é eliminado e a fécula é arrastada pela água e separada por decantação em tanques ou planos inclinados, ou por centrifugação. A fécula obtida é seca em secadores de túnel ou *flash-dryers* (VILELA; FERREIRA, 1987; LIMA, 2000).

El-Dash (1987); Vilela e Ferreira (1987); Carvalho et al. (1996); Pandey et al. (2000); Chuzel et al. (2002); Cardoso e Souza (1996) apud Lima (2000); Balagopalan (2002) e Rakshit (2004) destacam a importância da mandioca na alimentação humana (aproximadamente 60% da produção de mandioca) e animal, como também na produção de inúmeros produtos industriais, tais como farinha de mesa, farinha panificável, polvilho doce e azedo para confecção de pães de queijo, biscoitos, massas alimentícias e panificáveis (macarrão, pão, bolachas e bolos), espessantes em sopas, pudins, alimentos infantis, sagu, tapioca, indústrias de carne e embutidos (presunto, salame e mortadela), , xaropes de glicose, dextrinas, maltose, maltodextrinas, amidos pré-gelatinizados, oxidados, esterificados, glutamato de sódio, lisina, ácido cítrico, ácido láctico, manitol, sorbitol produtos de cervejarias, bebidas fermentadas, plástico biodegradável, na indústria de papel (dar corpo, acabamento, goma e firmeza do papel), têxteis (engomagem estamaria, espessante de corantes, acabamento, firmeza dos tecidos, lavanderia), ligas cerâmicas, fundições, mineração, adesivos, tintas, cosméticos, medicamentos, explosivos, indústrias petrolíferas, produção de álcool entre outros incontáveis produtos (ANEXO D).

2.4.1 Polvilho azedo

Amido ou fécula de mandioca fermentada é um produto típico de alguns países da América do Sul, produzido principalmente no Brasil, onde é conhecido como polvilho azedo e, na Colômbia, Argentina e Equador onde é conhecido como “*almidon*

agrio”. É usado para a produção de pães e biscoitos sem glúten (MESTRES; ROUAU, 1997; DEMIATE et al., 1999; GUYOT; MORLON-GUYOT, 2001; BALGOPALAN, 2002).

No polvilho azedo a fermentação tem várias finalidades: eliminar a toxicidade, tornar a polpa mais macia, melhorar o sabor e dar novas características ao produto (CEREDA; LIMA, 1981; KIMARYO et al., 2000; GIRALD et al., 2002).

A existência desses produtos se deve à facilidade de utilização dos componentes da raiz de mandioca, como substratos, pelas enzimas endógenas e exógenas, essas últimas originárias de bactérias, bolores e leveduras que se instalam durante os processos naturais de fermentação (MENEZES et al., 1998 apud GIRALD et al., 2002).

O polvilho azedo é um produto típico brasileiro, muito utilizado na culinária, na indústria de alimentos e como matéria prima insubstituível na confecção de biscoitos de polvilho e pão de queijo, o qual apresenta capacidade de expansão ao assamento sem a adição de farinha de trigo ou fermento (NAKAMURA; MORAES; MARTUCCI, 1976; CEREDA, 1981, 1983a, 1983b, 1987; CEREDA; BONASSI, 1985; ASCHERI; VILELA, 1995; CEREDA; NUNES; VILPOUX, 1995; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1995; DEMIATE et al., 2000; FRANCO et al., 2001; MAEDA; CEREDA, 2001; BALAGOPALAN, 2002).

A legislação, por meio das Normas Técnicas Especiais Relativas a Alimentos e Bebidas, Resolução CNNPA nº. 12 de 1978 (BRASIL, 1978), classifica o polvilho em doce e azedo, tendo por base apenas a acidez titulável, que, para alimentos fermentados, deve ser no máximo 1,0 mL de NaOH N/100 g para fécula e de 5,0 mL para polvilho azedo. Os limites de umidade e cinzas são os mesmos para ambos os produtos que era de no máximo 14,0 e 0,5 % respectivamente. A RDC nº. 263 de 22 de

setembro de 2005 modificou os limites de umidade para no máximo 18% para ambos os produtos (BRASIL, 2005).

A produção de polvilho azedo está localizada em microrregiões produtoras dos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (CEREDA, 1987; RAUPP et al., 1999; MAEDA; CEREDA, 2001).

Cárdenas e Buckle (1980); Mestres e Rouau (1997) afirmam que o polvilho azedo é um produto fermentado modificado pelo ataque de ácidos e enzimas. O ataque ácido é evidenciado pela grande produção de ácidos orgânicos, e o ataque enzimático, por pequenas corrosões em alguns grânulos do amido fermentado. As características naturais desta fermentação e a escassez de trabalhos publicados sobre a cinética enzimática prevalente no processo impossibilitam o estabelecimento do nível de hidrólise ácida e enzimática na obtenção do polvilho azedo.

O processo fermentativo natural do amido de mandioca que envolve principalmente uma microbiota láctica, altera o grânulo de amido, conferindo ao polvilho azedo características peculiares. Além do sabor e do aroma, as modificações ocorridas alteram sua reologia (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; CEREDA; BONASSI, 1985, CEREDA, 1993; ASCHERI; VILELA, 1995; CARVALHO; CANHOS; VILELA, 1995; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1995; 1998; DUFOUR et al., 1996; MESTRES; ROUAU, 1997).

2.4.1.1 Tecnologia de fabricação de polvilho azedo

As raízes empregadas na produção do polvilho azedo devem ser processadas em período que não ultrapasse 24 horas após a colheita, o que contribui para a qualidade do produto. Alguns produtores utilizam a fécula extraída durante a safra da

mandioca e armazenada como matéria prima na fabricação do polvilho azedo na entressafra (CEREDA, 1987; WESTBY; CEREDA, 1994; CARVALHO et al., 1996).

Em linhas gerais, o fluxograma de obtenção do polvilho azedo (Figura 16) consiste em: recebimento das raízes; lavagem e descascamento; desintegração e/ou ralação; extração, quando o “leite do amido” é separado do bagaço por peneiras planas vibratórias ou cônicas rotativas, sob água corrente. O bagaço acumulado é eliminado e o amido é arrastado pela água, quando será separado por decantação em tanques de alvenaria ou chicanas (labirintos) revestidos de cerâmica ou com divisórias de madeira. A fécula obtida é transferida para tanques de fermentação, que podem ser desde cochos de madeira a tanques de alvenaria, revestidos ou não com cerâmica, cobertos ou descobertos e deixados fermentar sob uma camada de água. Esta fermentação natural permanece durante 15 a 60 dias dependendo da região. O final do processo é empírico, com o aparecimento de espuma e bolhas no interior da massa. Após a fermentação o polvilho é colocado para secar ao sol.

A fermentação e secagem ao sol modificam o amido, conferindo uma característica muito interessante, alta habilidade para reter vapor e expandir durante o assamento. As modificações ocorridas durante o processo fermentativo do polvilho azedo são redução do pH, formação de ácidos orgânicos, aumento da acidez titulável, ataque de enzimas amilolíticas, diminuição do poder de inchamento e da viscosidade, e aumento da solubilidade do polvilho (ASCHIERI; VILELA, 1995).

Pereira et al. (1999) e Maeda e Cereda (2001) afirmam que o polvilho azedo apresenta propriedades físicas, químicas e funcionais características, diferentes das da fécula de mandioca do qual se originou.

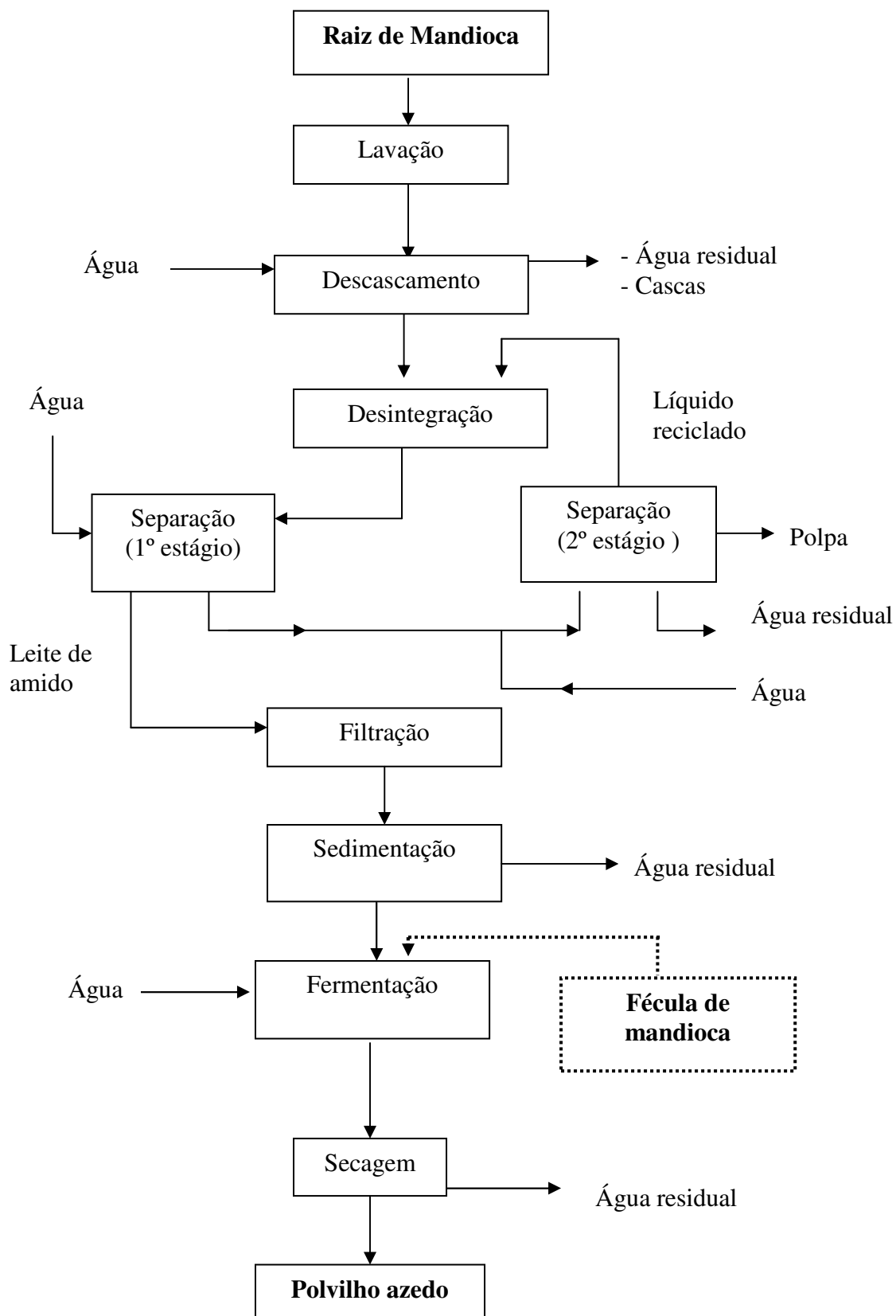


Figura 16 Processo de produção de amido de mandioca fermentado (adaptado de Marder et al., 1996). Rota alternativa durante a entressafra da mandioca.

Fonte: Avancini, 2006.

Inúmeros autores afirmam que a fermentação e a secagem ao sol são necessárias para que o polvilho azedo tenha a habilidade de expansão ao forno, havendo necessidade de pesquisas para explicar o efeito da secagem ao sol comparativamente à secagem em secador (NUNES, 1994; NUNES; CEREDA, 1994; MESTRES; ROUAU, 1997; DEMIATE; CEREDA, 2000; MAEDA; CEREDA, 2001; AMPE; SIRVENT; ZAKHIA, 2001; GUYOT; MORLON-GUYOT, 2001; VATANASUCHART et al., 2005). Portanto, o estabelecimento de bases teóricas para justificar quimicamente a expansão, faz-se necessário.

Segundo Cereda, Nunes e Vilpoux (1995) em análises realizadas com fécula de mandioca, polvilho azedo seco em estufa e seco ao sol, a habilidade de expansão do polvilho azedo seco ao sol foi duas vezes maior. Mestres e Rouau (1997), Mestre, Zakhia e Dufour (1997), Demiate et al. (1999; 2000) reafirmam que a secagem ao sol do polvilho azedo é essencial para a elevada expansão ao forno. Também reportam que recentemente a degradação oxidativa tem sido considerada como a provável responsável por essa propriedade.

A literatura cita diversas tentativas para a produção de massas não convencionais com a substituição da farinha de trigo. Shen et al. (1998) produziram pães a partir de polvilho azedo e farinha de soja, sendo considerados mais nutritivos e econômicos além de serem livres de glúten.

Escouto e Cereda (1999) afirmam que o polvilho azedo sozinho apresenta poder de expansão suficiente para produzir massa panificável com alveolação adequada para fazer com que o produto tenha aspecto de pão.

Ascheri e Vilela (1995) e Cereda (1983a; 1983b; 1983c; 1987) e Cereda e Catâneo (1986) afirmam que o processo de fermentação natural do polvilho azedo ressurte-se da falta de uniformidade até mesmo para amostras de mesma origem, o que

é atribuído à interrupção em diferentes fases de desenvolvimento e produção de ácidos, sem parâmetros de controle, e que não existem padrões de qualidade para o polvilho azedo, apenas limites físico químicos fixados pela legislação.

Cereda (1983a; 1983b; 1993), Cereda e Catâneo (1986) e Cereda, Nunes e Vilpoux (1995) comprovaram serem inadequados os limites de acidez titulável, cinzas e umidade para as avaliações da qualidade do polvilho azedo, conforme fixa a legislação brasileira. Os autores observaram que existem variações em quase todas as análises químicas realizadas. Essas variações foram atribuídas à falta de cuidado na elaboração do polvilho azedo, o qual fica sujeito a contaminações grosseiras por poeira e vento, havendo aumento no teor de cinzas.

A variação da acidez titulável é atribuída ao fato de as fermentações não serem submetidas a análises de controle, sendo interrompidas em diferentes estágios de desenvolvimento e de produção dos ácidos (CEREDA; LIMA, 1981; CEREDA; BONASSI, 1985; CEREDA; GIAJ-LEVRA, 1987; CEREDA, 1993; ASCHERI; VILELA, 1995). Segundo Cereda (1983), Cereda; Bonassi (1985) estas variações se devem não somente ao teor de ácidos formados, mas também à natureza desses ácidos.

Além de ácido láctico, outros ácidos tais como acético, propiônico e butírico estão presentes (CEREDA; LIMA 1981; CEREDA, 1983a; 1983c; CEREDA; BONASSIS, 1985; DEMIATE et al., 1999; DEMIATE; CEREDA, 2000) (Tabela 6).

Demiate et al. (1999) verificaram heterogeneidade nos resultados das análises de ácidos orgânicos em amostras de um mesmo Estado e entre os Estados, quanto ao teor e aos tipos de ácidos (Tabela 6), sugerindo a necessidade de melhorias no processo produtivo com o propósito de padronização na qualidade do produto.

Tabela 6 Valores de ácidos orgânicos de amostras de polvilho azedo (peso seco).

Amostra	Ácidos (g/100g; % de ácidos totais)								
	lático		acético		propiónico		butírico		total
1**	0,371	93,1	0,0028	6,9	0	0	0	0	0,399
2**	0,266	94,2	0,022	5,8	0	0	0	0	0,388
3**	0,135	100,0	0	0	0	0	0	0	0,135
4	0,204	60,5	0,063	18,6	0,013	3,9	0,057	19,0	0,337
5	0,271	72,7	0,050	13,4	0,008	2,1	0,043	11,8	0,373
6**	0,222	88,9	0,028	11,1	0	0	0	0	0,250
7**	0,145	89,0	0,018	11,0	0	0	0	0	0,163
8	0,267	74,5	0,048	13,4	0,005	1,5	0,038	10,6	0,359
9**	0,422	95,1	0,021	4,9	0	0	0	0	0,443
10**	0,528	100,0	0	0	0	0	0	0	0,528
11*	0,013	100,0	0	0	0	0	0	0	0,013
12**	0,112	100,0	0	0	0	0	0	0	0,112
13	0,350	80,3	0,046	10,7	0	0	0,039	8,9	0,436
14	0,623	91,1	0,025	3,7	0,004	0,5	0,032	4,7	0,684
15	0,331	84,2	0,043	11,0	0	0	0,019	4,8	0,393
16	0,585	91,6	0,035	5,5	0	0	0,019	2,9	0,639
17**	0,717	100,0	0	0	0	0	0	0	0,717
18**	0,761	100,0	0	0	0	0	0	0	0,761
19	0,190	77,4	0,023	9,2	0	0	0,033	13,4	0,246
20**	0,813	100,0	0	0	0	0	0	0	0,813
21**	0,804	100,0	0	0	0	0	0	0	0,804
22	0,036	38,2	0,043	45,2	0	0	0,016	16,6	0,095
23**	0,795	100,0	0	0	0	0	0	0	0,795
24	0,118	67,9	0,032	18,7	0,005	2,7	0,018	10,7	0,173
25	0,131	74,7	0,014	8,0	0	0	0,030	17,3	0,175
26	0,206	67,2	0,068	22,3	0	0	0,032	10,5	0,306
27	0,346	79,9	0,050	11,6	0	0	0,037	8,5	0,434
28	0,634	93,7	0,026	3,9	0	0	0,017	2,4	0,677
29**	0,627	96,6	0,022	3,4	0	0	0	0	0,648
30**	0,614	100,0	0	0	0	0	0	0	0,614

* amido mandioca nativo

** amostras que apresentaram teores de ácidos diferentes da literatura

Fonte: Demiate et al. (1999).

Muitos pesquisadores, em busca da padronização do polvilho azedo, formularam várias hipóteses e fizeram inúmeras investigações desde testes de absorção de água, utilização de féculas com diferentes modificações, índice de expansão ao forno até quantidade e tipos de ácidos orgânicos, e procuraram correlacionar tais parâmetros com as propriedades reológicas do polvilho azedo (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; CEREDA; LIMA, 1981; CEREDA 1983a; 1983c; CEREDA; BONASSI, 1985; CEREDA, 1987; CEREDA, 1993; ASCHERI; VILELA, 1995;

PLATA-OVIEDO; CAMARGO 1995; 1998; DEMIATE et al., 2000; GUYOT; MORLON-GUYOT, 2001; MAEDA; CEREDA, 2001).

Quanto ao processo fermentativo do polvilho azedo, Cereda (1987) e Carvalho et al. (1996) afirmam ser difícil explicar uma fermentação tão exuberante a partir de um meio de cultivo tão pobre, pois o substrato se restringe a uma suspensão de amido granular e água, já que durante o processo de purificação da fécula os compostos solúveis tais como vitaminas e compostos nitrogenados se perdem.

Alguns produtores, com o propósito de acelerar o processo fermentativo, utilizam um inóculo de polvilho da safra anterior e/ou deixam os tanques de fermentação “sujos” de uma safra para outra (CEREDA, 1987; SILVEIRA et al., 2000).

A fermentação do polvilho azedo sempre apresenta sinais visíveis com formação de bolhas de gás e espuma na superfície, independentemente da microbiota ser originária do inóculo, meio ambiente ou matéria-prima (CEREDA, 1987; SILVEIRA et al., 2000).

Cereda (1987), Cereda; Nunes e Vilpoux (1995) e Silveira et al. (2000) comprovaram que o polvilho azedo seco contém microrganismos suficientes para ser usado como inóculo. Com a identificação dessa microbiota, esses autores subdividiram-na em três grupos, pela ordem de ocorrência, embora essas fases não sejam obrigatoriamente distintas.

A 1ª fase da fermentação é marcada por uma microbiota pouco exigente, entre eles os gêneros *Escherichia*, *Alcaligenes*, *Micrococcus* e *Pseudomonas*, e rápida queda de concentração de oxigênio dissolvido. Também foi detectado o *Bacillus* capaz de produzir enzima amilolítica, iniciando o ataque ao amido granular e fornecendo carbono às bactérias da 2ª fase. Quanto à fonte de nitrogênio, foi constatada a presença

de bactérias não simbióticas, fixadoras de nitrogênio (CEREDA, 1985, 1987; CEREDA; GIAJ-LAVRA, 1987; SILVEIRA et al., 2000).

O aspecto alterado da superfície dos grânulos de amido de mandioca após a fermentação, com perfurações e rachaduras, comprova o efeito do ataque das amilases (CEREDA; NUNES; VIPOUX, 1995; MARCON, 2004; MARCON et al. 2006).

A 2ª fase propicia o desenvolvimento de microrganismos microaerófilos, facultativos ou anaeróbios estritos responsáveis pelas fermentações lácticas, acéticas, butíricas e propiônicas, entre outras. A predominância de determinado ácido orgânico depende de vários fatores, entre eles a temperatura. Nas regiões frias a fermentação é mais lenta e predomina a microbiota láctica, enquanto nas regiões quentes, a fermentação é mais rápida e predomina a butírica.

Na 3ª fase aparecem os microrganismos saprófitas e contaminantes, entre os quais diversas espécies de leveduras que seriam responsáveis pela formação dos compostos aromáticos (CEREDA; GIAJ-LAVRA, 1987; CEREDA, 1987, CEREDA; NUNES; VIPOUX, 1995; SILVEIRA et al., 2000).

A microbiota envolvida na fermentação do polvilho azedo foi estudada na tentativa de obter um padrão microbiológico, mas a falta de uniformidade do produto é a principal barreira. O acompanhamento da evolução dos parâmetros que controlam o processo fermentativo corresponde a uma importante opção para assegurar a sua qualidade (CEREDA, 1987; CEREDA; GIAJ-LEVRA, 1987; CARVALHO et al., 1996; SILVEIRA et al. 2000; AMPE SIRVENT; ZAKHIA, 2001; GUYOT et al., 2002; OMAR et al., 2000 apud GUYOT e MORLON-GUYOT, 2002).

Em pesquisa realizada por Carvalho, Canhos e Vilpoux (1995) sobre a microbiota do polvilho azedo, houve predominância dos microrganismos dos gêneros

Lactobacillus (32 %), *Leuconostoc* (21 %), *Lactococcus* (12,6 %), *Enterococcus* (8,3 %), *Pediococcus* (5,9 %), *Streptococcus* (0,8 %) e de leveduras (2,2 %).

Carvalho et al. (1996) afirmam que 80,6% dos microrganismos são bactérias ácido lácticas (BAL), que a fermentação é feita por microbiota mista que produz aumento da acidez titulável e também que a presença de leveduras seria de vital importância para o fornecimento de açúcares fermentáveis para a atuação das outras bactérias do processo.

Ampe, Sirvent e Zakhia (2001) investigaram a população microbiana desenvolvida durante a fermentação natural do polvilho azedo usando eletroforese e rRNA, mostrando que os organismos dominantes foram BAL, principalmente *Bifidobacterium minimum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus saccharolyticus* e *Lactobacillus plantarum*; também *Lactobacillus panis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum* e o *Lactobacillus manihotivorans*, representando acima de 13 % do total das BAL.

Segundo Omar et al. (2000) apud Guyot e Morlon- Guyot (2001), durante o processo de fermentação do amido de mandioca para a produção de polvilho azedo, a produção de ácido láctico deve-se à ação das bactérias ácido-láticas amilolíticas (ALAB). A bactéria *Lactobacillus manihotivorans* é uma ALAB isolada do processo, a qual é homolática e produz mais de 98% de L(+) ácido láctico e junto com a espécie não amilolítica *Lactobacillus plantarum* dominam a microflora natural. Eles afirmam que a qualidade do produto varia muito devido às condições do processo não serem controladas e que o uso de *Lactobacillus manihotivorans* como iniciador poderia ajudar na melhoria do processo por obter maior qualidade no produto final.

Vários pesquisadores como Guyot et al. (2002), Sanni et al. (2002) na tentativa de padronizar a fermentação do polvilho azedo investigaram a sua microbiota, visando

a possibilidade de um *starter*, e observaram alta diversidade de espécies, principalmente nos seus perfis fermentativos e variabilidades de características para diferentes áreas geográficas.

Outra preocupação em relação ao processo fermentativo na produção do polvilho azedo é a produção de micotoxinas. Westby (2002) afirma que no final do processo fermentativo ocorre o domínio de BAL e fungos e que fungos micotoxigênicos têm sido isolados de mandioca por diversos pesquisadores, como Essers e Nout (1989) e Ndunguru et al. (1999) apud Westby (2002).

2.4.1.2 Propriedades do polvilho azedo

O polvilho azedo apresenta características bem distintas do polvilho doce, tendo em comum somente a matéria prima, e, em alguns casos, serve como matéria prima para inúmeros produtos (CEREDA, 1983a; 1983b; CEREDA; CATÂNEO, 1986; CEREDA, 1987; MESTRES; ROUAU, 1997; MAEDA; CEREDA, 2001).

Uma característica valorizada pelo setor alimentício é a propriedade de expansão dos grânulos de amido. A busca dos fatores envolvidos no desenvolvimento da propriedade de expansão para a fécula de mandioca tem fomentado diversas pesquisas nos últimos anos (LEONEL; GARCIA; REIS, 2004).

As modificações produzidas no polvilho azedo, durante o processo fermentativo, são as que conferem ao produto assado aparência inchada, estrutura típica alveolar do miolo e crosta crocante (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; ASCHERI; VILELA, 1995; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1995; MESTRES; ROUAU, 1997; GUYOT; MORLON-GUYOT, 2001).

A Figura 17 ilustra a forma predominante da fécula de mandioca, a qual apresenta superfície lisa e do polvilho azedo que apresenta superfície porosa e

presença de orifícios e rachaduras típicas de amido que sofreu processo de fermentação.

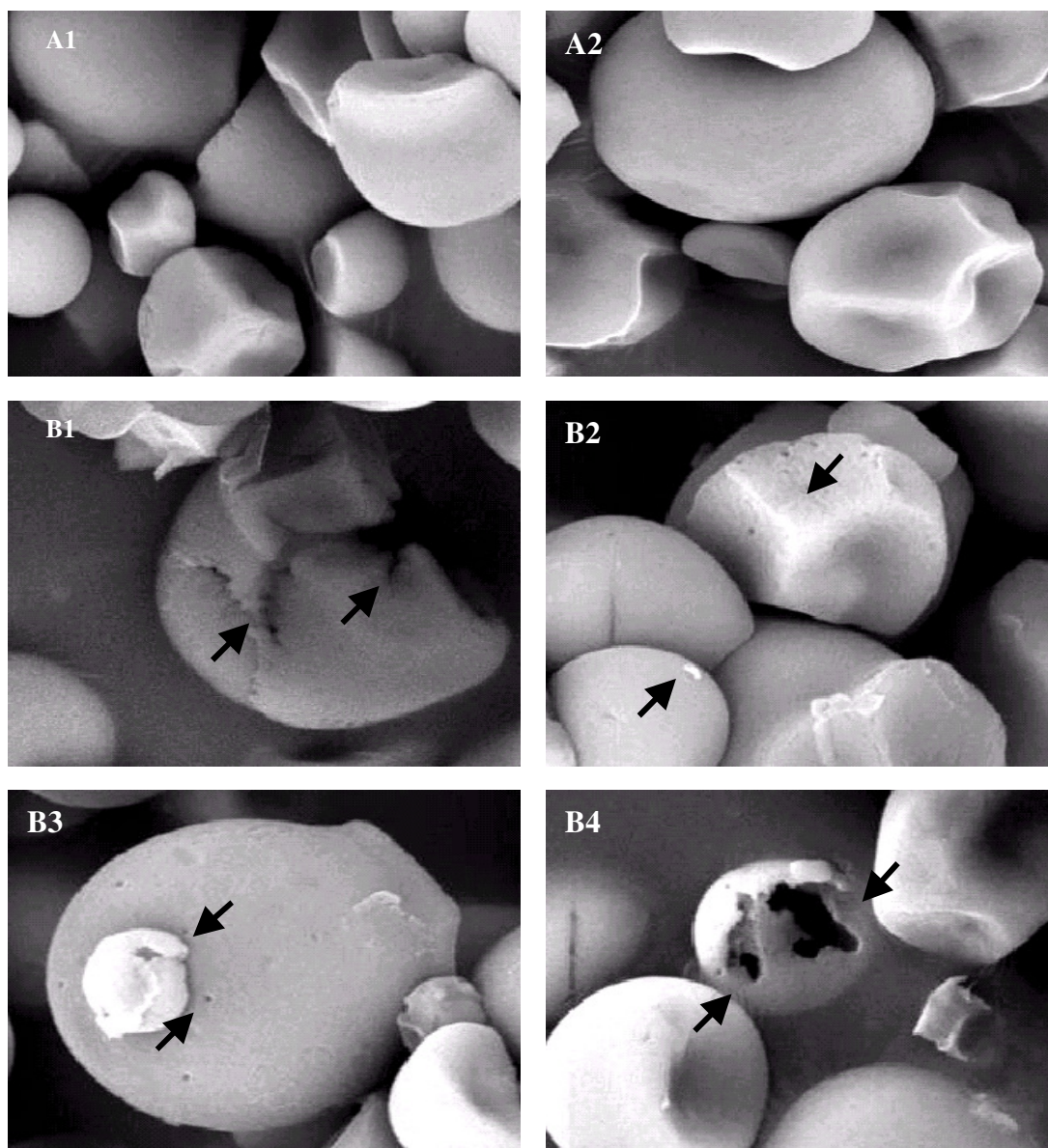


Figura 17 Micrografia de microscopia eletrônica de varredura de grânulos de amido nativo (fécula) e fermentado (polvilho azedo) de mandioca – A1 e A2: fécula nativa industrial; B1, B2, B3 e B4: polvilho azedo.

Fonte: Marcon, 2004.

Demiante et al. (2000) concluíram que as amostras de polvilho azedo e todos os amidos quimicamente modificados e acidificados com ácidos orgânicos deram boa

expansão e os que somente sofreram acidificação não apresentaram esta habilidade e, afirmam que a propriedade de expansão ao forno está ligada ao processo oxidativo. Mesmo após lavagem das amostras elas continuaram com a habilidade de expansão o que sugere mudanças estruturais nas moléculas de amido

Nakamura, Moraes e Martucci (1976) também chegaram à mesma conclusão quando compararam biscoitos confeccionados com polvilho azedo e com fécula de mandioca com algumas alterações: adição de fermento químico, de α -amilase, de fermento biológico ou de vinagre.

Cárdenas e Buckle (1980) observaram que, independentemente do grau de acidez, os polvilhos azedos secos ao sol, sempre apresentam produto com excelente volume específico, alveolação e crostas características, porém as féculas tratadas por ácido apresentam volume específico similar ao de fécula de mandioca nativa.

Cereda (1983b), na tentativa de substituir o polvilho azedo por fécula de mandioca, formulou biscoitos com diferentes concentrações de fécula acidificada e concluiu que a fécula não substitui o polvilho azedo.

Cereda (1987) concluiu após alguns produtores tentarem secar artificialmente o polvilho azedo e não atingirem o mesmo poder de expansão, que, mais do que o calor, a radiação solar é a responsável por essa propriedade.

Plata Oviedo e Camargo (1995) obtiveram o mesmo resultado comparando biscoitos elaborados com polvilho azedo comercial e féculas tratadas com ácidos orgânicos secas ao sol e em estufa.

Mendes da Silva, Façanha e Gomes da Silva (1998) observaram que a substituição parcial do polvilho azedo por amido gelatinizado, por amilose e por amilopectina diminuiu significativamente o volume do biscoito formulado.

Minim et al. (2000) relataram que o pão de queijo não apresenta um padrão de qualidade estabelecido, não existindo uma tecnologia de produção, caracterização ou tipificação do produto.

Marcon et al. (2006; 2007b) afirmam que a fermentação e secagem ao sol são fundamentais para a fécula de mandioca adquirir a propriedade de expansão. Os resultados de expansão utilizando polvilho azedo foram significativamente superiores aos obtidos na utilização de fécula. A Figura 18 ilustra a diferença na expansão de amostras utilizando-se fécula de mandioca e polvilho azedo.

Aplevicz e Demiate (2007) testaram várias formulações para biscoitos de polvilho, utilizando amidos modificados e apesar de obterem bons resultados de expansão, não obtiveram grau de aceitação devido à aparência e coloração escura em relação ao biscoito formulado com polvilho azedo.

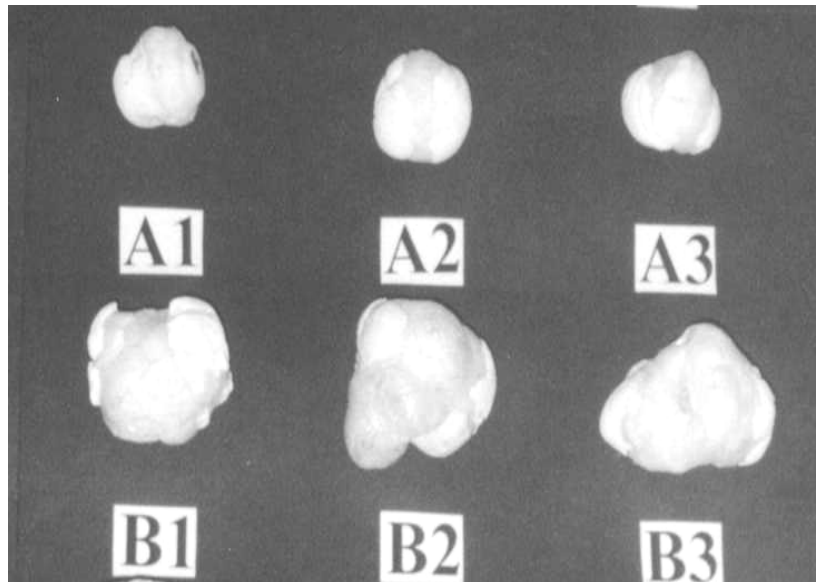


Figura 18 Diferença na capacidade de expansão de biscoitos confeccionados com fécula de mandioca (A) e com polvilho azedo (B) de três regiões do Estado de Santa Catarina: 1- Santa Rosa, 2 - Tubarão e 3 - Rio do Sul.

Fonte: Marcon et al. (2006).

As principais características que diferem o polvilho azedo do amido de mandioca nativo, também denominado fécula são: acidez, grau de expansão, viscosidade, claridade de pasta, sinerese e poder redutor (APLEVICZ; DEMIATE, 2007).

O polvilho azedo apresenta viscosidade e temperatura inicial de pasta, menores do que a da fécula de mandioca e sem tendência à gelificação durante o resfriamento. As diferenças de viscosidade entre os amidos fermentados e não fermentados estão ilustradas na Figura 19, onde se observa que a fécula apresenta maior pico de viscosidade, comparativamente ao polvilho azedo (NAKAMURA; MORAES; MARTUCCI, 1976; APLEVICZ; DEMIATE, 2007; MARCON et al., 2007b).

Brabet et al. (1994) concluíram que a expansão do polvilho azedo pode depender de outros fatores. Eles isolaram bactérias lácticas produtoras de exopolissacarídeos, as quais poderiam ser as responsáveis pela formação da estrutura viscoelástica responsável pela retenção de gás e expansão da massa de polvilho azedo durante o assamento.

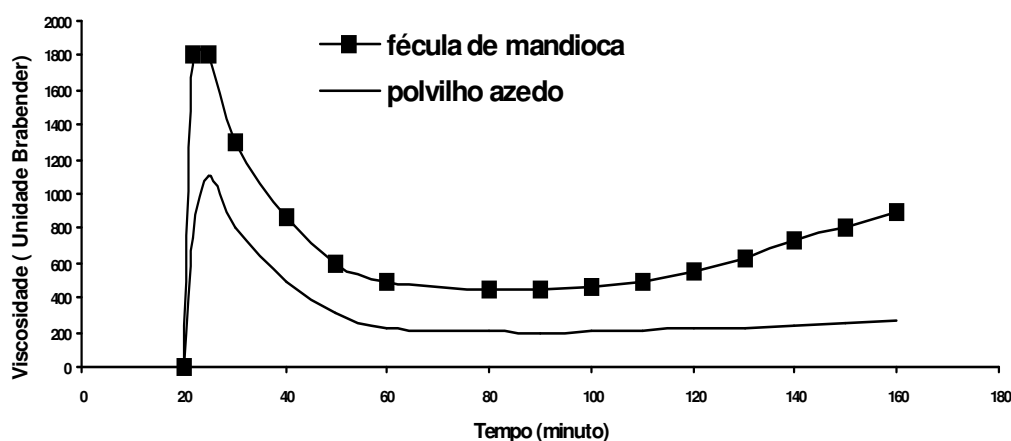


Figura 19 Amilograma comparativo da fécula de mandioca e do polvilho azedo.

Fonte: Nakamura, Moraes, Martucci, 1976.

Quando se compara a composição química da fécula de mandioca com a do polvilho azedo, percebe-se que a fermentação enriquece o teor protéico do polvilho azedo em cerca de dez vezes (Tabela 7). Cereda (1987), Ascheri e Vilela (1995), Plata Oviedo e Camargo (1995) afirmam que isso é devido aos resíduos metabólicos produzidos por microrganismos durante a fermentação. Há também um aumento do teor de fibras e do teor de cinzas. A elevação do teor de cinzas do polvilho azedo é devida ao processo de secagem ao sol, ao ar livre, o qual sofre a ação dos ventos e de poeira.

O amido irradiado com UV sofre mudanças nas propriedades funcionais com aumento da capacidade de ligação de água e da solubilidade e diminuição da viscosidade da pasta quente, o que pode ser observado após exposição com luz solar particularmente com fécula de mandioca que foi previamente acidificada (MESTRES; ROUAU, 1997; FIEDOROWICZ; TOMASIK; LIM, 1999; NUNES, 1994; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1998).

Tabela 7 Composição centesimal da fécula de mandioca e de duas amostras de polvilho azedo comercial das marcas Caribé (Polvilho A) e Cruzeiro do Sul (Polvilho B).

Determinações	Fécula	Polvilho A	Polvilho B
Proteínas (%)	0,03	0,45	0,42
Cinzas (%)	0,15	0,25	0,21
Fibras (%)	0,10	0,31	0,38
Amido (%)	99,60	98,70	98,90
pH	4,96	3,55	3,65
Acidez titulável	0,39	5,79	5,31

Fonte: Plata-Oviedo e Camargo (1995)

A fotodegradação do amido resulta na quebra de ligações glicosídicas com a diminuição da cadeia de amilose e a desramificação da cadeia de amilopectina e formação de radicais livres (BERTOLINI et al., 2001a; 2001b).

A luz solar ou a irradiação UV parecem não modificar a estrutura cristalina do amido, pois a entalpia de gelatinização permanece inalterada (MESTRES; ROUAU, 1997; FIEDOROWICZ; TOMASIK; LIM, 1999 BERTOLINI; MESTRES; COLONNA, 2000; BERTOLINI et al., 2001b), entretanto diminuem a viscosidade intrínseca (MESTRES; ROUAU, 1997; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1998) e promovem um novo ambiente de ligações cruzadas (FIEDOROWICZ; TOMASIK; LIM, 1999).

A viscosidade intrínseca tem sido usada como indicador do grau de hidrólise em amidos modificados por ácidos, a qual diminui com a intensidade do tratamento (LEACH, 1963).

Para Bertolini et al. (2001a) o mecanismo da fotodegradação ainda não está esclarecido. Eles afirmam que irradiação UV e gama diminuem significativamente a viscosidade intrínseca, aumentam a formação de radicais livres e a despolimerização. O poder de expansão envolve a reassociação das moléculas de amido de tamanho reduzido da amilose e/ou amilopectina nas regiões amorfas.

A fécula de mandioca tem menor liberação de água que o polvilho azedo reafirmando a despolimerização do amido durante o processo fermentativo. A quebra das cadeias seria responsável pela menor capacidade do polvilho azedo reter a água; portanto, fécula e polvilho azedo são produtos diferenciados quanto à funcionalidade (APLEVICZ; DEMIATE, 2007).

Mudanças degradativas na distribuição do tamanho molecular em amidos acidificados e irradiados com UVA,UVB e UVC foram observadas em cromatogramas

(HPSEC) obtidos por Vatanasuchart et al. (2005). Foi observado também que a molécula de amilose é mais afetada pelo UV do que a molécula de amilopectina e que tanto a amilose quanto a amilopectina foram degradadas pela irradiação UVC e que as moléculas de amilose foram degradadas principalmente pela irradiação UVB. Os autores sugerem que estas mudanças poderiam ser as responsáveis pela habilidade de expansão ao assamento do amido de mandioca

Porém, quando os amidos são expostos por longo tempo a irradiação UVC (15 horas) há uma redução substancial no tamanho das cadeias de amilose e amilopectina, causando uma demasiada despolimerização, refletindo em uma estrutura ineficiente para produzir uma rede com capacidade de expansão na massa de pão durante o assamento (VATANASUCHART et al., 2005).

Marcon et al. (2007b) estudando as relações entre a expansão e a viscosidade, concluíram que não ocorre relação direta entre a expansão e a viscosidade de pasta para o polvilho azedo de diferentes procedências. Observaram que as diferenças na viscosidade não comprometem o desempenho do polvilho azedo quanto à expansão atingida, em todas as amostras. Apesar de algumas amostras de polvilhos apresentarem menores picos de viscosidade máxima, isto não comprometeu o desempenho da expansão. Portanto, a propriedade de expansão que caracteriza o polvilho azedo pode estar mais relacionada à geração de compostos formadores de rede oriundos da fermentação ou secagem ao sol, independentemente do desempenho viscoamilográfico do amido.

Aplevicz e Demiate (2007) enquadraram o biscoito de polvilho azedo em uma categoria de produtos com baixo valor agregado, em função de suas características de qualidade. É um produto regional e sua tecnologia de fabricação não segue uma

padronização; afirmam ser necessário o estabelecimento de padrões de qualidade para que a cadeia de produção possa se desenvolver.

Maeda e Cereda (2001) propõem uma classificação para o polvilho azedo segundo o índice de expansão. A proposta classifica como tipo A, os polvilhos com qualidade extra e que apresentem um índice de expansão ao forno superior a 16,0 mL/g, tipo B os polvilhos de média qualidade, com índice de expansão entre 12,0 e 16,0 e tipo C, os polvilhos de qualidade inferior que apresentem índice de expansão inferiores a 12,0 mL/g.

2.5 Modelagem química de polímeros naturais

A modelagem química está sendo considerada tão importante quanto foi a domesticação de plantas e animais há 10.000 anos (DISCHER; AHMED, 2006, citados por THEODOROU, 2007). Nos últimos 20 anos, a simulação em computador passou de uma curiosidade acadêmica a uma ferramenta preditiva para explicar as relações entre estrutura, propriedades, processamento e comportamento de polímeros, indispensável para projetar novos produtos e processos (THEODOROU, 2007).

Quando a modelagem envolve um processo químico industrial, a complexidade aumenta proporcionalmente ao número de variáveis envolvidas na tomada de decisão. A modelagem em processos suporta atividades tais como projeto, controle de processo, otimização de processo e projetos/operação de unidades com operações unitárias complexas (LAM; LI; XU, 2007).

O comportamento do amido, como um polímero natural, apresenta inúmeras variáveis que interferem nas propriedades dos produtos. Ao e Jane (2007), caracterizaram e modelaram as estruturas dos grânulos de amido com padrões de difração de raios X A e B, de trigo, triticale e cevada. Os resultados foram atingidos

mediante a separação dos grânulos com características de padrão A e B, fracionamento da amilose e amilopectina, observação da morfologia e estrutura cristalina dos grânulos, distribuição das amilopectinas pelo comprimento e número de ramificações, propriedades térmicas, microscopia eletrônica de varredura e propriedades de pasta. A partir destas informações, conseguiram propor um modelo para a estrutura granular e molecular dos grânulos com padrões de difração de raios X A e B.

Beleia, Butarelo e Silva (2006) compararam variedades de mandioca com diferentes tipos de padrão de comportamento durante o cozimento, acompanhando a temperatura de gelatinização do amido e propuseram um modelo matemático baseado no tempo de gelatinização para comparação entre as propriedades reológicas das variedades. Não ficou definido se as variedades mais macias possuem diferentes amidos ou se a estrutura do tecido vegetal poderia estar influenciando.

As propriedades especiais do polvilho azedo foram alvo de estudos realizados por inúmeros pesquisadores, procurando explicar quimicamente as características de expansão (BERTOLINI, MESTRES; COLONNA, 2000; 2001a; 2001b; GARCIA; LEONEL, 2005; VATANASUCHART et al., 2005).

Vatanasuchart et al. (2005) estudaram as propriedades moleculares do polvilho azedo obtido por secagem e irradiação UV em diferentes comprimentos de onda sobre as propriedades reológicas do produto. Foi verificado que ocorrem reduções no tamanho das moléculas de amilose e amilopectina que interferem no desempenho do polvilho azedo em panificação. No entanto, não foi encontrado um trabalho elucidando a relação entre a estrutura gerada nos produtos de panificação, com a natureza química do polvilho azedo.

Em escala laboratorial, o tratamento do amido de mandioca com ácido láctico, acético e radiação ultravioleta e secagem artificial tem aumentado a capacidade de

expansão durante o assamento (DEMIATE et al., 2000; BERTOLINI; MESTRES; COLONNA, 2000; 2001a; 2001b; TAKIZAWA et al., 2004; VATANASUCHART et al., 2005; SILVA et al., 2006; 2008), mas o mesmo não ocorre com outras fontes amiláceas (biri, batata-doce, taioba) que não adquirem esta capacidade (GARCIA; LEONEL, 2005).

As características estruturais e funcionais dos amidos submetidos à ação do ácido láctico e radiação UV e a influência da fonte botânica não estão completamente esclarecidas (DEMIATE et al., 2000; BERTOLINI MESTRES; COLONNA, 2000, 2001a, 2001b; TAKIZAWA et al., 2004; GARCIA; LEONEL, 2005; VATANASUCHART et al., 2005; SILVA et al., 2006; 2008). Propostas para o mecanismo de expansão do polvilho azedo podem estar baseadas no aprofundamento dos conhecimentos acumulados sobre a fécula de mandioca e o polvilho azedo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para unificar a denominação das amostras, sempre que este trabalho se referir à amostra de amido nativo de mandioca será usado o termo: fécula de mandioca e, quando se tratar de amido fermentado de mandioca, será usado o termo: polvilho azedo.

3.1 Material

3.1.2 Preparo das amostras

- Féculas de mandioca de diferentes marcas e de diferentes procedências (cinco amostras) – FMY, FMK, FM 1, FM 2, FM 3;
- Polvilhos azedos comerciais adquiridos em supermercados da região, de diferentes marcas e diferentes procedências (três amostras) – PAC 1, PAC 2 e PAC 3;
- Polvilhos azedos comerciais selecionados após entrevistas com os panificadores, onde as amostras preferidas por eles foram identificadas (três amostras) – PAR 1, PAR 2, PAR 3;
- Polvilho azedo referência - mix das três amostras escolhidas pelos panificadores que foram misturadas e homogeneizadas – PAM;
- Polvilhos azedos fermentados em laboratório - Boa expansão - (doze amostras)
- As amostras foram fermentadas simulando o processo industrial e conforme metodologia de Marcon (2004). As amostras foram deixadas fermentar por 48 dias. Após este período a água sobrenadante foi retirada e o amido fermentado foi seco ao sol – PAL 1, PAL 2, PAL 3, PAL 4, PAL 4, PAL 5, PAL 6, PAL 7, PAL 8, PAL 9, PAL 10, PAL 11 e PAL 12;
- Polvilhos azedos fermentados em laboratório - Baixa expansão - (Etapa I) – Duas amostras de amidos nativos de diferentes marcas e de diferentes regiões

adquiridas no supermercado local foram misturadas, homogeneizadas, pesadas em triplicata e adicionadas de 0,5% de glicose conforme Marcon (2004). Os recipientes previamente identificados (A, B e C) foram deixados fermentar no Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças (LFH) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), de modo aleatório, distribuídas em recipientes plásticos, devidamente identificadas, e deixadas fermentar com água em excesso para formar uma camada sobrenadante sobre o amido. Quando a amostra atingiu acidez 2,0 mL a água sobrenadante foi retirada e a amostra foi dividida em duas porções, onde uma foi seca ao sol (PASSOL) e a outra seca em estufa (PASE).

Todas as amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno de baixa densidade, devidamente identificadas, e armazenadas em local fresco e seco, até a realização das análises, as quais ocorreram em duas etapas. As análises foram realizadas em triplicata.

O trabalho foi realizado em duas etapas e as amostras utilizadas estão descritas na Tabela 8:

- **Etapa I** - foram utilizadas duas amostras de fécula de mandioca (FMK, FMY), duas de polvilho azedo fermentado em laboratório (PASSOL, PASE) e uma amostra de polvilho azedo mix (PAM) totalizando 5 amostras;
- **Etapa II** - foram utilizadas cinco amostras de fécula de mandioca (FMY, FMK, FM 1, FM 2, FM 3); sete amostras de polvilho azedo comercial (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAR 1, PAR 2, PAR 3, PAM); quatorze amostras de polvilho azedo produzidas em laboratório (PASE, PASSOL, PAL 1, PAL 2, PAL 3, PAL 4, PAL 5, PAL 6, PAL 7, PAL 8, PAL 9, PAL 10, PAL 11, PAL 12) totalizando 26 amostras.

Tabela 8 Identificação das amostras.

Amostras	Identificação	Etapa
Fécula Yoki	FMY	I e II
Fécula Kanty	FMK	I e II
Fécula de mandioca 1	FM1	II
Fécula de mandioca 2	FM2	II
Fécula de mandioca 3	FM3	II
Polvilho azedo comercial 1	PAC1	II
Polvilho azedo comercial 2	PAC2	II
Polvilho azedo comercial 3	PAC3	II
Polvilho azedo mix (Mix dos três polvilhos referência)	PAM	I
Polvilho azedo referência 1	PAR1	II
Polvilho azedo referência 2	PAR 2	II
Polvilho azedo referência 3	PAR 3	II
Polvilho azedo laboratório seco ao sol	PASSOL	I e II
Polvilho azedo laboratório seco em estufa	PASE	I e II
Polvilho azedo laboratório 1	PAL1	II
Polvilho azedo laboratório 2	PAL2	II
Polvilho azedo laboratório 3	PAL3	II
Polvilho azedo laboratório 4	PAL4	II
Polvilho azedo laboratório 5	PAL5	II
Polvilho azedo laboratório 6	PAL6	II
Polvilho azedo laboratório 7	PAL7	II
Polvilho azedo laboratório 8	PAL8	II
Polvilho azedo laboratório 9	PAL9	II
Polvilho azedo laboratório 10	PAL10	II
Polvilho azedo laboratório 11	PAL11	II
Polvilho azedo laboratório 12	PAL12	II

3.2 Métodos

3.2.1. Entrevista com os padeiros

Panificadoras da região central da Grande Florianópolis, Santa Catarina, foram visitadas, com o objetivo de entrevistar os padeiros. As entrevistas foram abertas, e incluíam questões como:

- Qual o critério utilizado na compra do polvilho?
- Quem faz a compra e qual o método de escolha?
- Utiliza algum método prático para diagnosticar se o polvilho é de boa qualidade?
- O que espera que ocorra e não ocorra com a massa?
- Quais os problemas encontrados com o polvilho durante a panificação?
- Qual a marca utilizada do polvilho?

3.2.2 Análises físico químicas, ATR-FTIR e microscópicas

Na etapa I foram realizadas as análises de umidade, cinzas, pH, fator ácido, amilose, poder de inchamento e índice de solubilização, densidade absoluta, índice de expansão, volume específico, densidade específica, viscosidade intrínseca, massa molar, difração de raios X, DSC, microscopia eletrônica de varredura, microscopia de fluorescência, ATR-FTIR, e também o desenho de um modelo químico para o mecanismo de expansão do polvilho azedo. A partir da proposta do mecanismo de expansão foram sugeridas as variáveis mais importantes para futuros trabalhos prevendo a maximização da expansão do polvilho azedo.

Na etapa II foram realizadas as análises de amilose, poder de inchamento, índice de solubilização, pH, fator ácido, índice de expansão, densidade específica e volume específico.

Umidade e cinzas

Foram realizadas análises de umidade (AOAC 921.10) e cinzas (AOAC 921.03) segundo as metodologias da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1999).

pH

Foi determinado utilizando 25g da amostra diluída em 50 mL de água destilada. A leitura foi feita sob agitação utilizando agitador magnético, em um potenciômetro (pHmetro) marca Quimis, modelo Q 400 A.

Fator ácido

Foi utilizado o procedimento empregado na indústria e nos laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura (MAPA) (BRASIL, 1971). Consiste na pesagem de 25g da amostra, adicionando 50 mL de água destilada. A amostra foi homogeneizada utilizando agitador magnético, titulada com HCl 0,1 N, até o pH atingir o valor 3,0 e a leitura foi realizada em pHmetro marca Quimis, modelo Q 400 A. O resultado corresponde ao volume gasto (em mL) de HCl 0,1 N para a suspensão atingir pH 3,0 .

Amilose

Foi empregado o procedimento colorimétrico de Williams, Kuzina e Hlinka (1970) para a determinação do teor de amilose. As amostras de 20 mg de amido, foram dispersas em 10 mL de hidróxido de sódio 1 N; diluídas 10 vezes com posterior adição de ácido clorídrico 0,2 N e solução I-KI (iodo, iodeto de potássio). A leitura foi realizada em espectrofotômetro marca Hitachi, modelo U1800, UV visível, a 680 nm. O teor de amilose foi obtido a partir de curva padrão com o emprego de amilose e

amilopectina de mandioca extraída a partir de amido de mandioca, segundo Mc Cready e Hassid (1943), no Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças (LFH) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Densidade absoluta

A densidade absoluta dos grânulos foi determinada pelo método de deslocamento do xileno em picnômetro a 30°C, segundo Schoch e Leach (1964).

Índice de expansão

Foram pesados 50g de amostra e adicionados 40 mL de água fervente. A massa foi modelada em 5 biscoitos redondos de aproximadamente 10g cada, os quais foram distribuídos em assadeira e levados ao forno elétrico termostatizado marca Fischer, modelo Diplomata automático a temperatura de 200°C, por 25 minutos. O tamanho dos biscoitos antes e após serem assados e resfriados foi medido utilizando um paquímetro (Metrica, Itália). O resultado do índice de expansão foi calculado pela relação entre o volume inicial e o volume final dos biscoitos.

Volume específico

Os biscoitos confeccionados para análise de expansão foram utilizados nesta análise. Os biscoitos depois de assados e resfriados foram pesados e avaliados pelo método de deslocamento das sementes de painço em proveta de 2000 mL. O resultado da razão entre valor do deslocamento das sementes e o peso dos biscoitos após o assamento foi expresso em volume específico (mL/g) (CEREDA, 1983a; 1983b; NUNES; CEREDA, 1999, DEMIATE et al., 2000; MAEDA; CEREDA, 2001, LEONEL; GARCIA; REIS, 2004; APLEVICZ; DEMIATE, 2007).

Densidade específica

O resultado da razão entre o peso dos biscoitos após o assamento e o valor do deslocamento das sementes foi expresso em densidade específica (g/mL).

Poder de inchamento e índice de solubilização

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos foram determinados de acordo com o método descrito por Leach, Mccowen e Schoch (1959), com algumas modificações. Para esta análise foi pesado 0,4 g de amido (base úmida) em tubos de centrífuga, previamente tarados e adicionados 36 g de água destilada. A suspensão aquosa foi agitada algumas vezes e submetida a gelatinização em banho com agitação constante por 30 minutos a temperatura de 90°C. Em seguida, os tubos foram retirados do banho, as paredes externas secas e depois de resfriados foram pesados. Foi adicionada água destilada para completar 40g, considerando a massa inicial de cada amostra. Os tubos foram fechados, homogeneizados e centrifugados em centrífuga (Hermle Z200A), por 20 minutos a 3400 rpm. Uma alíquota de 10 mL foi retirada do sobrenadante e colocada em placas de Petri, previamente taradas e levada à estufa a 65° C por 24 horas, para determinação da massa de amido solubilizado. O amido sedimentado no tubo de centrífuga foi cuidadosamente pesado e o poder de inchamento e solubilidade determinados segundo as Equações 1 e 2.

$$\text{Índice de Solubilização (IS)} = \frac{(\text{massa de amido solúvel} \times \text{peso da água} \times 100)}{\text{massa da amostra (base seca)} \times \text{alíquota}} \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{Poder de Inchamento (PI)} = \frac{\text{massa do material sedimentado}}{\text{massa da amostra (base seca)}} \quad (\text{Equação 2})$$

Viscosidade intrínseca

Soluções de amido de concentrações 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 e 0,7 g/mL foram preparadas em KOH 1N e analisadas quanto à viscosidade intrínseca de acordo com Leach e Schoch (1963). Para determinar o tempo de escoamento do solvente (KOH 1N) e das soluções de amido, exatos 10 mL foram transferidos para um viscosímetro (Schott, AVS 350, CT 53) capilar (nº 100) de Ostwald, calibrado em banho termostatizado a 30°C. O tempo de escoamento do KOH N foi usado como referencial de fluxo (T_0 – tempo zero). A viscosidade relativa foi obtida da relação T/T_0 , onde T é o tempo de fluxo em segundos na concentração testada. A viscosidade específica (η_{esp}) foi dada por $\eta_{\text{esp}} - 1$, e a viscosidade reduzida (η_{red}), por η_{esp}/C (concentração do amido). A determinação da viscosidade intrínseca foi baseada na extrapolação, à concentração zero, da reta obtida por ajuste matemático dos pontos experimentais da curva de viscosidade reduzida em função da concentração da solução. A relação da viscosidade intrínseca $[\eta]$ com a massa molar (M) foi dada pela equação de Staudinger-Mark-Houwink (Equação 3), sendo que K e α são parâmetros empíricos e foram obtidos de tabelas (FOSTER, 1965).

$$[\eta] = K.M^{\alpha} \quad \text{(Equação 3)}$$

onde, $K = 1,18 \times 10^{-3}$; $\alpha = 0,89$ (para o solvente KOH 1N)

3.2.3 Espectroscopia no infravermelho com reflectância total atenuada com transformada de Fourier (*Attenuated total reflectance-Fourier-transform infrared spectroscopy* - ATR-FTIR)

Os espectros FTIR das amostras de amido de mandioca foram obtidos usando um captador (*golden gate*) com um acessório de atenuação de reflectância de diamante, em um espectrofotômetro Bruker IFS-55. Um espectro de um cristal limpo foi adquirido e as amostras pulverizadas e medidas diretamente após a prensagem das

partículas sobre o cristal. O espectro foi obtido em absorvância de 4000 a 600 cm^{-1} na resolução de 4 cm^{-1} . As amostras utilizadas foram previamente colocadas em estufa de circulação de ar, para estabilização da umidade.

3.2.4 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As propriedades térmicas das amostras foram examinadas por um calorímetro diferencial de varredura (DSC) marca Shimadzu DSC-50. As amostras (3,4mg) foram pesadas nas panelinhas de alumínio com água destilada para obter uma suspensão de amido a 30%. As panelinhas foram hermeticamente seladas e deixadas em temperatura ambiente por 12 horas. Elas foram escaneadas 10°C/min na faixa temperatura de 20 a 220°C. Uma panelinha vazia foi usada como referência.

3.2.5 Difração de raios X

Os difratogramas de raios X foram realizados utilizando um monocromador de fluoreto de lítio utilizando radiação de cobre, velocidade de varredura de 1° por minuto, em condições de trabalho de 30 kV e 20 mA.

O índice de cristalinidade relativa (IC) dos amidos foi quantitativamente determinado traçando no difractograma uma linha na base dos picos principais (Figura 20), conforme proposto por Hayakawa et al. (1997). O IC foi definido como a razão entre a área da região cristalina e a área total coberta pela curva, composta pela área da região cristalina e a área da região amorfa, conforme a Equação 4 (ROCHA; DEMIATE; FRANCO, 2008).

$$\text{IC (\%)} = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

onde A_c = área cristalina;

A_a = área amorfa no difratograma.

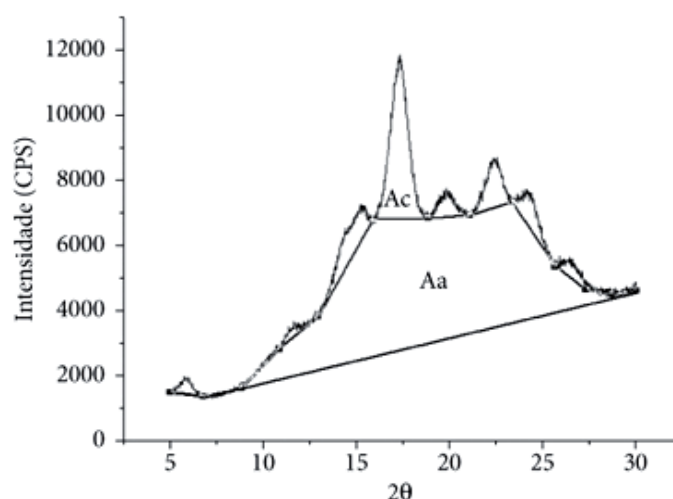


Figura 20 Difratograma de raios X descritivo do método de índice de cristalinidade relativa adaptado à razão das intensidades difratadas.

Fonte: Rocha; Demiate; Franco (2008).

3.2.6 Microscopia eletrônica de varredura

Foi utilizado um microscópio marca Phillips, modelo XL 30 com filamento de tungstênio como fonte de elétrons e detector de elétrons secundários. As amostras foram colocadas sobre um porta amostras de alumínio e recobertas com uma fina camada de ouro, utilizando um metalizador modelo D2 *Diode Sputtering System*, fabricado pela ISI (*International Scientific Instruments*).

3.2.7 Microscopia de fluorescência

As amostras de amido foram examinadas para identificação de fluorescência primária em microscópio de epifluorescência marca Axiostar-plus equipado com filtros de excitação de 365, 450-490 e 546 nm e filtros de barreira complementares de >418, >520 e >590 nm, respectivamente. Para a visualização da fluorescência secundária foram utilizados os fluorocromos: calcofluor, ANS, azul de nilo e laranja de acridina, que são específicos para paredes celulares ou β -glucanas, proteínas, lipídeos e amido e pectina, respectivamente.

3.3 Correlação entre o índice de expansão e as características químicas, físico químicas e reológicas do polvilho azedo

A partir das amostras escolhidas através da preferência dos panificadores (amostras referências) e de amostras de polvilho azedo com bons resultados para a propriedade de expansão, foram determinadas as variáveis com melhores correlações positivas ou negativas com a expansão.

Foi estabelecida a correlação por meio da metodologia de análise de componentes principais, estabelecendo-se um modelo através de um delineamento central composto rotacional conforme proposto por Cochran e Cox (1980) que permitiu organizar as características de qualidade (descritores subjetivos) estabelecidas pelos panificadores (ADQ – análise descritiva qualitativa), com um conjunto de parâmetros físico químicos agrupados em *clusters*. De acordo com esta seleção de parâmetros, os coeficientes de correlação entre os atributos subjetivos dos padeiros e os parâmetros físico químicos, foram estudados, definindo-se aqueles que fizeram parte da função objetivo, que estabeleceu um modelo matemático preliminar para a maximização da propriedade de expansão do polvilho azedo.

3.4 Desenho do modelo químico para o mecanismo de expansão do polvilho azedo

O grânulo de amido foi estudado a partir dos últimos modelos publicados para a estrutura de amidos nativos, fazendo-se adaptações segundo as modificações ocorridas durante a fermentação e secagem ao sol do polvilho azedo que levam ao produto com as propriedades de expansão. A partir da associação de informações coletadas atendendo aos objetivos específicos deste trabalho, foi proposto um modelo que permite prever o comportamento da massa, segundo alguns parâmetros físico

químicos decisivos, sob o ponto de vista científico e prático, para o processo de expansão.

3.5 Análise estatística

Os parâmetros físico químicos foram determinados, no mínimo, em triplicata, para cada amostra. Os resultados foram expressos em médias e desvios padrão. As médias foram comparadas por análise de variância e quando a diferença entre as médias foi significativa, as diferenças foram analisadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o Software Statística 6.0.

A correlação entre cada uma das variáveis analisadas com o índice de expansão foi calculada utilizando o software Statística 6.0. A partir das melhores variáveis, foi encontrado um polinômio para expressar a expansão em função destas, através da construção de curvas de superfície de resposta.

Dez replicatas do espectro IR (com adição de 128 varreduras antes da transformada de Fourier), foram coletadas de cada amostra, em um total de 55 espectros. As medidas dos espectros foram normalizadas, as linhas de base corrigidas e transferidos para formato JCAMP.DX (OPUS v. 5.0, *Bruker Biospin*) em um analisador de dados (The *Unscrambler* v. 9.1). Antes da análise quimiométrica, cada espectro na região de $3000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ foi normalizado e o desvio padrão foi corrigido (ČOPÍKOVÁ et al., 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Etapa I

4.1.1 Entrevista com os padeiros

As entrevistas com os padeiros revelaram que a dificuldade de padronização do produto faz com que estes profissionais sejam fiéis às aquelas marcas que predominantemente apresentaram o melhor desempenho para cada um deles. Os problemas citados, em geral, foram relacionados ao fato da massa não crescer resultando em um produto não expandido como é tradicionalmente esperado; ou crescer e não conseguir sustentar a rede apresentando uma aparência murcha e textura gomosa. Também comentaram que nunca sabem como se comportará o polvilho a cada nova aquisição. Os padeiros creditam o problema a secagem (polvilho “forte” maior secagem, polvilho “fraco”, menor secagem), época do ano, granulometria, porém não são unânimes, alguns preferem granulometria fina outros granulometria grossa. Eles tentam minimizar estes problemas adquirindo o produto da marca que resultou em sucesso na panificação, apesar de comentarem que mesmo assim observam a ocorrência de problemas.

As opiniões colhidas nas entrevistas conduziram a pesquisa para três marcas comerciais de polvilho azedo, tendo sido estas as consideradas com melhor desempenho, servindo como modelo de produto com expansão preferida pelos profissionais de panificação.

Estas marcas comerciais preferidas foram comparadas com os polvilhos azedos produzidos em laboratório e com féculas de mandioca, totalizando uma população de amostras, com a diversidade de propriedades suficiente para conduzir os estudos, correlacionando aquelas variáveis definidas na etapa I do trabalho como as mais

importantes, com os resultados que permitiram discriminar aquelas que mais contribuem para a capacidade de expansão.

4.1.2 Microscopia de fluorescência e microscopia eletrônica de varredura

Os resultados da microscopia de fluorescência para as féculas de mandioca de duas marcas comerciais, polvilhos azedos adquiridos no mercado local, fermentados em laboratório secos em estufa e secos ao sol (Figura 21). Foi possível comprovar que a fermentação compromete a estrutura cristalina do grânulo, ao verificar que os amidos granulares apresentam apenas um ponto fluorescente, enquanto os fermentados apresentam diferenças marcantes (inúmeros pontos fluorescentes) quando em contato com os fluorocromos.

Não foram encontradas na literatura, imagens similares para a comparação dos resultados, porém, as diferenças entre as féculas de mandioca e os polvilhos azedos são evidentes pelas características apresentadas.

As alterações na estrutura nos polvilhos azedos observados na microscopia de fluorescência como também na microscopia eletrônica de varredura podem indicar redução na densidade dos mesmos, o que está de acordo com os dados publicados para as características microscópicas (MARCON et al., 2006), mostrando perfurações, o que significa danos na estrutura física granular.

Para a visualização da fluorescência secundária foram utilizados os fluorocromos ANS e laranja de acridina, que são específicos para proteínas e amido e pectina, respectivamente.

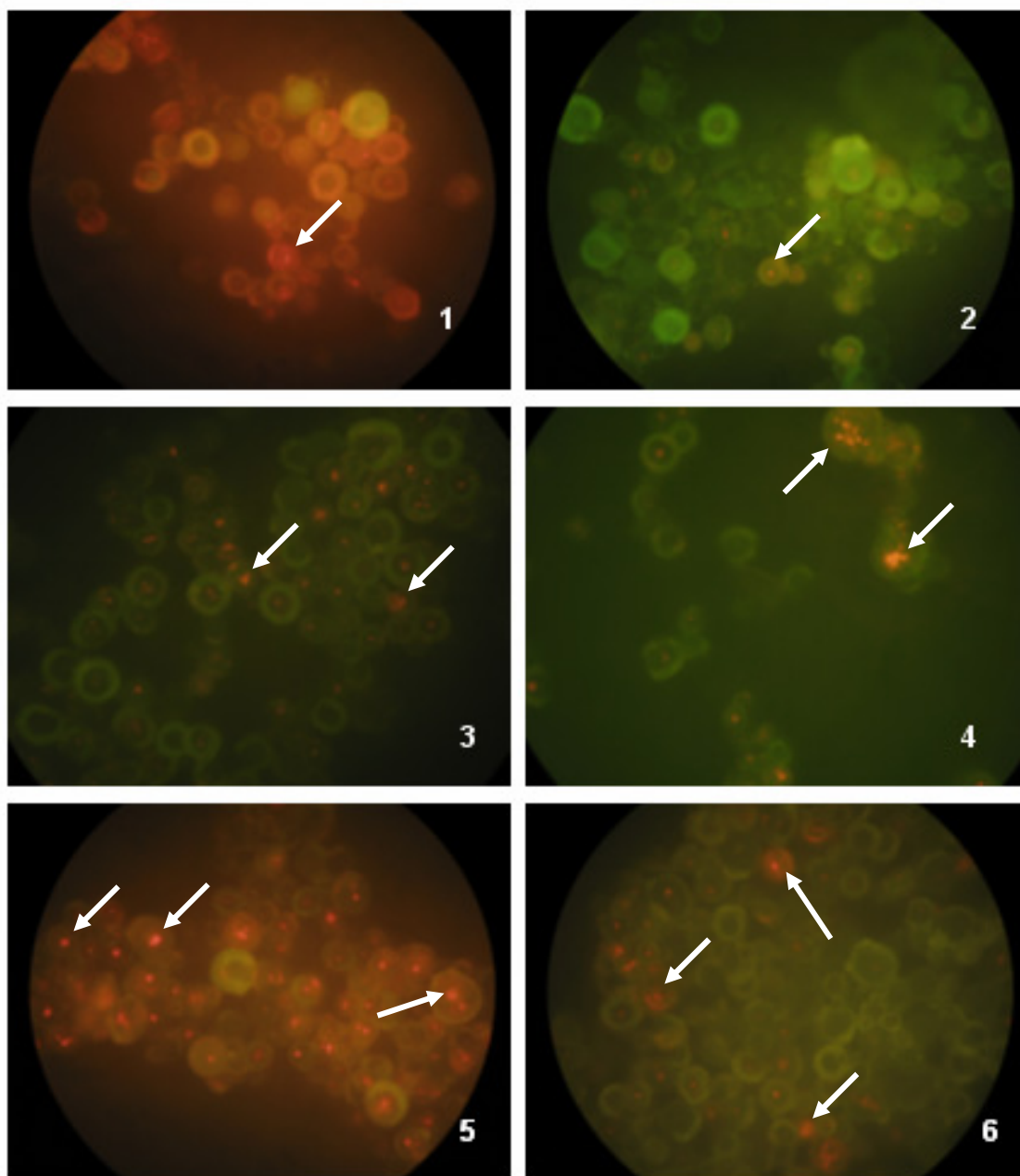


Figura 21 Microscopia de fluorescência de fécula de mandioca FMK e FMY (1 e 2), polvilho azedo fermentado em laboratório seco em estufa - PASE (3 e 4) e seco ao sol - PASSOL (5 e 6) utilizando os fluorocromos laranja de acridina + ANS e luz azul (100 X).

Os grânulos de fécula de mandioca (FMK e FMY), observados em microscópio eletrônico de varredura, apresentam superfícies lisas e os dos polvilhos azedos (PASSOL, PASE e PAM) apresentam superfícies rugosas e orifícios ou fendas na sua superfície (evidenciados pelas setas) que são característicos destes amidos (Figura 22).

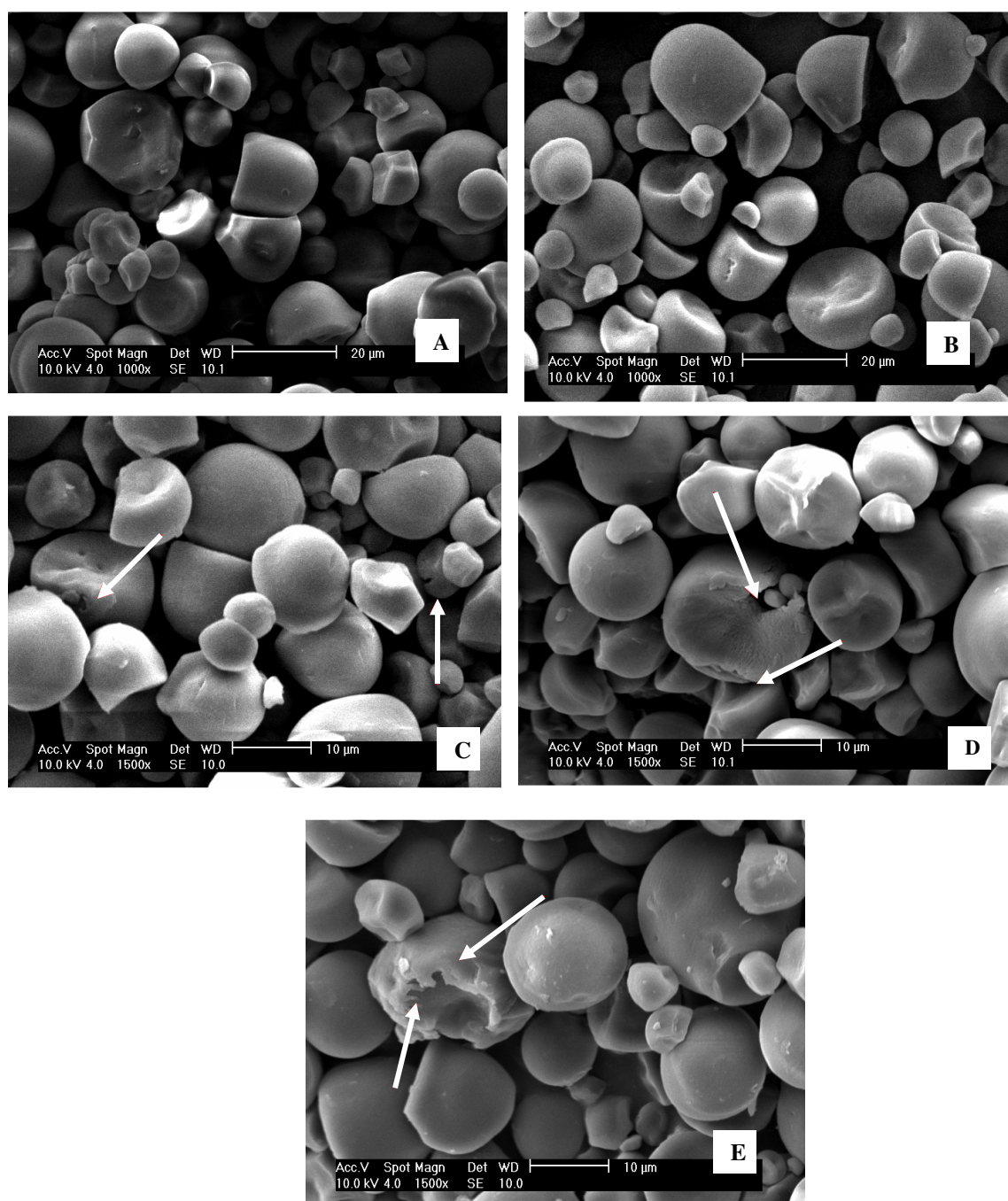


Figura 22 Micrografia eletrônica de varredura de grânulos de fécula de mandioca FMK (A) e FMY (B), polvilho azedo obtido em laboratório seco em estufa - PASE (C) e seco ao sol - PASSOL (D) e polvilho azedo referência mix – PAM (E).

Diferentemente das féculas de mandioca, os grânulos dos polvilhos azedos, apresentam perfurações devido à ação de enzimas amilolíticas, que atuam primeiramente sobre as zonas amorfas dos grânulos colocados em excesso de água no

processo fermentativo (ZHOU et al., 1998; MESTRES; ZAHIA; DUFOUR, 1997; DEMIATE et al., 2000; MESTRES et al., 2000; MARCON, 2004; MARCON et al., 2006; 2007 b; JIPING et al., 2007).

Amidos acidificados quimicamente apresentaram-se semelhantes aos polvilhos azedos de acordo com Vatasurchart et al. (2003); Segura e Sira (2003); Zambrano, Camargo e Tavares (2001); Guanaratne e Hoover (2002); Rocha, Demiate e Franco (2008). Estes orifícios ou fendas influenciam algumas características dos amidos, dentre elas, a susceptibilidade enzimática, uma vez que facilitam a penetração das enzimas no interior dos grânulos (WANG; POWELL; OATES, 1995).

Os grânulos de fécula de mandioca assim como do polvilho azedo observados através da microscopia eletrônica de varredura mostraram formas predominantemente ovaladas, arredondadas e truncadas típicas de amido de mandioca e diâmetros variados e, que a forma não sofre mudanças na fermentação.

O mesmo foi observado também por Sriroth et al., (1999), Zambrano, Camargo e Tavares (2001); Guanaratne e Hoover (2002); Rocha, Demiate e Franco (2008), verificaram também que a forma não sofre mudança quando este sofre modificações por hidrólise com ácidos orgânicos.

Vatanasuchart et al. (2003) relataram que a forma da fécula de mandioca nativa, da acidificada e irradiada com UVB e UVC não mudou, sendo redonda ou oval, algumas truncadas e, que as amostras acidificadas apresentaram superfícies corroídas pelo ataque ácido.

Segura e Sira (2003) afirmam que os grânulos de fécula de mandioca nativas e modificadas por fosfatização e acetilação não sofreram modificação na sua forma, porém a superfície que é lisa torna-se rugosa e com presença de porosidade. O mesmo

foi constatado por Guanaratne e Hoover (2002) e Shariffa et al. (2009) que analisaram fécula de mandioca nativa e após tratamento hidrotérmico (HTM).

Segundo Li e Yeh (2001), o diâmetro médio da fécula de mandioca é de 19,5 μm . Leonel, Garcia e Reis (2004) encontraram diâmetros variando de 15 a 20 μm e formas circulares, côncavo-convexas características; os diâmetros encontrados por Guanaratne e Hoover (2002) foram de 5 a 45 μm . Parada e Sira (2003) confirmam a forma e diâmetro de 8 a 17,4 μm e citam que outros autores encontraram diâmetros que variam de 1,7 a 30 μm .

Estas afirmações contrariam Acosta et al. (2006) que utilizaram a microscopia Óptica de Alta Resolução, para mostrar as diferenças morfológicas (forma e tamanho) entre as féculas de mandioca, de batata e polvilho azedo. Observaram que a forma regular da fécula de mandioca (esférica e redonda) antes do processo de fermentação natural vai se perdendo com a fermentação e adquirem forma alargada semelhante as da fécula de batata (ovoides e redondos). Segundo os autores, a forma dos grânulos da fécula de mandioca, esféricas ou semiesféricas é devida à cristalinidade do grânulo.

Acosta et al. (2006) observaram que a degradação enzimática não é homogênea, pois há grânulos que conservam sua esfericidade devido à pequena atividade das amilases durante a fermentação natural.

Quando os grânulos da fécula de mandioca são atacados por amilases, existe inicialmente uma preferência pelas zonas amorfas devido a alta susceptibilidade enzimática destas regiões de menor cristalinidade (BILIADERIS; GRANT; VOSE, 1981).

4.1.3 Caracterização físico química dos grânulos de amido

As amostras de fécula de mandioca foram analisadas separadamente (FMK e FMY) para avaliar as variabilidades naturais uma vez que são evidentes as diferenças dos diâmetros granulares (que variam entre 0,5 e 100 μm), de formas e de compactação (WHISTLER; PASCHAL, 1965; DEMIATE et al., 1999). Estas diferenças podem ser importantes nas propriedades do amido na industrialização, onde grânulos de diferentes tamanhos e compactações podem influenciar seu uso.

A amostra de fécula FMY apresenta diversos parâmetros que foram estatisticamente semelhantes aos do polvilho azedo fermentado em laboratório seco ao sol (PASSOL) (poder de inchamento, viscosidade intrínseca), e em estufa (PASE) (pH, volume específico, densidade específica, viscosidade intrínseca) (Tabela 9). Estas semelhanças servem para indicar que mesmo amostras de fécula de mandioca diferem entre si e podem atingir valores extremos que as aproximam das propriedades dos amidos fermentados.

Fatores climáticos, solo de plantio, tempo de plantio, tempo entre a colheita e o processamento, podem conduzir algumas amostras de amidos nativos a estas características. Segundo Chatakanonda et al. (2003), em diferentes condições de cultivo os grânulos de amido apresentam características significativamente diferentes. Em época chuvosa o grânulo possui tamanho maior, menor pico de gelatinização e maior pico e viscosidade de pasta do que em época de seca. Também há diferença significativa no conteúdo de amilose em amostras de mandioca com 6 e com 12 meses de plantio.

Sriroth et al. (1999) observaram que em quatro cultivares de mandioca colhidos em diferentes épocas do ano, não houve mudanças nas formas, porém, encontraram diferenças no tamanho dos grânulos do amido.

Tabela 9 Características físico químicas das amostras de fécula de mandioca (FMK, FMY), polvilho azedo referência mix (PAM), polvilho azedo fermentado em laboratório seco ao sol (PASSOL) e seco em estufa (PASE).

PARÂMETROS	AMOSTRAS				
	FMK	FMY	PASSOL	PASE	PAM
Umidade (g.100 ⁻¹ g)	12,56±0,08c	11,72±0,10b	12,51±0,28c	9,49±0,49a	14,19±0,19d
Cinzas (g.100 ⁻¹ g)	0,12±0,01b	0,12±0,01b	0,08±0,01a	0,07±0,01a	0,19±0,02c
pH	6,10±0,02d	4,97±0,02c	4,36±0,04b	4,76±0,47bc	3,73±0,02a
FA* (mL HCl N)	1,70±0,02b	2,06±0,02c	1,55±0,01a	1,63±0,06ab	2,83±0,03d
Amilose (g.100 ⁻¹ g)	15,72±0,24a	15,28±0,20ab	15,75±0,29ab	15,97±0,08b	16,00±0,17b
PI* (g.100 ⁻¹ g)	34,92±2,09c	31,30±1,53bc	29,83±1,95ab	27,03±0,74a	25,99±0,77a
IS* (g.100 ⁻¹ g)	28,84±1,74b	31,23±1,62b	22,11±2,63a	21,49±0,79a	36,05±0,84c
DA* (g.mL ⁻¹)	1,56±0,04b	1,66±0,03b	1,41±0,03a	1,40±0,05a	1,36±0,03a
IE*(g.mL ⁻¹)	1,18±0,02a	1,19±0,01a	1,66±0,07c	1,46±0,03b	2,00±0,07d
VE*(mL.g ⁻¹)	2,83±0,06a	2,85±0,05a	5,76±0,27b	2,72±0,24a	10,07±0,23c
DE* (g.mL ⁻¹)	0,36±0,01c	0,35±0,01c	0,17±0,01b	0,34±0,01c	0,10±0,01a
VI* (mL.g ⁻¹)	196,22±14,68c	176,95±8,06bc	185,17±1,10bc	166,46±16,31b	105,71±1,12a
Massa Molar Média	186840,60 ±13979,93c	168491,72 ±7678,37b	176318,80 ±1043,39bc	166268,33 ±10981,63b	100652,25 ±1070,61a
IC* (%)	32,72	37,85	39,45	25,90	34,08

* FA = fator ácido, PI = poder de inchamento, IS = índice de solubilização, DA = densidade absoluta, IE = índice de expansão, VE = volume específico, DE = densidade específica, VI = viscosidade intrínseca, IC = índice de cristalinidade.

As médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey (p<0,05).

Os resultados de umidade e cinzas são úteis para controlar as condições de secagem e a presença de resíduos de solo do processamento do amido. Os valores obtidos estão em conformidade com a legislação. De acordo com a Instrução Normativa n°. 23 de 14 de dezembro de 2005 os valores para umidade são de até 14% e cinzas de até 0,20%. Já a RDC n°. 263 de 22 de setembro de 2005 o valor de umidade é de no máximo 18% e de cinzas de 0,50% (BRASIL, 2005).

O fator ácido é um parâmetro prático muito empregado pela indústria de amido de mandioca. Ele está diretamente relacionado com a limpeza do amido, ou seja, quanto mais “lavado”, menor o fator ácido. Marcon (2004) encontrou para amido de mandioca nativo de diferentes regiões valores de 1,78, 2,12 e 3,78, para polvilho azedo de três diferentes regiões valores de 3,25, 3,57 e 4,02 e, para polvilhos azedos produzidos em laboratório a partir de fécula de mandioca valores entre 1,44 a 2,84. O

autor encontrou resultados com maior fator ácido para os polvilhos industriais comparativamente aos obtidos no trabalho, e afirmou não haver comprometimento no desempenho do produto, pois não houve diferença significativa nos valores de expansão.

O valor estabelecido para o fator ácido, pela Instrução Normativa nº. 23 de 14 de dezembro de 2005 (BRASIL, 2005) é de até 4,0 mL de NaOH 0,1N para fécula de mandioca tipo A.

As alterações na estrutura dos amidos nativos e fermentados também são reveladas pela redução na densidade dos mesmos. Amidos granulares de mandioca são mais densos do que os amidos fermentados. Existe uma relação inversa entre a densidade dos grânulos e o índice de expansão.

Os resultados para a densidade dos grânulos apresentados na Tabela 9, mostram que em geral ocorre uma diminuição após a fermentação, onde se observa que as féculas de mandioca têm maior densidade que os polvilhos azedos. Este efeito pode ser devido à difusão parcial de unidades de amilose para a água de fermentação e o processo de despolimerização.

Parada e Sira (2003) encontraram o valor de $1,45 \text{ g.mL}^{-1}$ para densidade absoluta de fécula de mandioca. Valores menores do que os encontrados neste trabalho para fécula de mandioca que foram de $1,56 \text{ g.mL}^{-1}$ (FMK) e de $1,66 \text{ g.mL}^{-1}$ (FMY). Não foram encontrados valores para polvilho azedo para serem comparados aos deste trabalho que foram de 1,41 (PASSOL), 1,40 (PASE) e de $1,36 \text{ g.mL}^{-1}$ (PAM).

A microscopia dos grânulos indica que a estrutura é comprometida na fermentação do amido. Esta relação inversa entre a densidade dos grânulos e o índice de expansão é comprovada, tanto nas imagens da microscopia de epifluorescência

(Figura 22) quanto na microscopia eletrônica de varredura (Figura 23), para as féculas de mandioca e os polvilhos azedos.

A Tabela 9 apresenta, além dos valores de densidade, outros resultados que indicam alterações nos grânulos de amido e as suas relações com a propriedade de expansão do polvilho azedo.

As amostras de polvilho azedo apresentaram valores de pH típicos para produtos fermentados que foram de 3,73 (PAM), 4,36 (PASSOL) e 4,76 (PASE), similares aos encontrados por Demiate et al. (2000) que foram de 3,5 e 3,7; Plata Oviedo e Camargo (1995) de 3,55 e 3,65 e Takizawa et al. (2004) de 4,7. Marcon (2004) encontrou valores de 3,77, 3,87 e 4,27 para polvilhos azedos de diferentes regiões e para polvilhos fermentados em laboratório valores de 3,77 a 4,58.

Quanto às féculas de mandioca os valores de pH encontrados variaram de 4,97 (FMY) e de 6,10 (FMK), semelhante aos encontrados por Demiate et al. (2000) de 6,0 e 5,8; Garcia e Leonel (2005) e Leonel, Garcia e Reis (2004) de 6,44; Takizawa et al. (2004) de 5,9; Silva et al. (2006) de 5,6 e, Parada e Sira (2003) de 5,40. Plata Oviedo e Camargo (1995) encontraram o valor de 4,96, comparável ao menor valor para o pH encontrado neste trabalho. Tanto os resultados apresentados no presente trabalho quanto os publicados para o pH em amidos nativos de mandioca, revelam uma grande variação neste parâmetro.

Vários autores afirmam que o pH do polvilho azedo é baixo (CEREDA, 1987; ASCHERI; VILELA, 1995; PLATA OVIEDO e CAMARGO, 1995; CARVALHO et al., 1996; PEREIRA et al., 1999; DEMIATE et al., 1999; 2000; SILVEIRA et al., 2000; MARCON, 2004; MARCON et al. 2006; 2007), o que foi comprovado pelos resultados obtidos neste trabalho que obteve valores de 3,73 a 4,76.

Freitas et al. (2004) encontraram teor de amilose para fécula de mandioca de 23,0 %, porém utilizaram amilose e amilopectina extraídas de milho Sigma como padrão, enquanto no presente trabalho, foram extraídas a amilose e a amilopectina do amido de mandioca, as quais foram empregadas como padrão. O valor de amilose encontrado por Whistler e BeMiller (1997) foi de 17 %; por Gunaratne e Hoover (2001; 2002) de 19,8 % ; por Li e Yeh (2001) de 19,9 %; Leonel, Garcia e Reis (2004) de 16,33 % e, Takizawa et al. (2004) de 18,6 %.

Sriroth et al. (1999) encontraram valores de amilose que variaram de 19,5 a 24,1%, e também constataram variações numa mesma cultivar em diferentes tempos de plantio, onde, por exemplo, a cultivar Rayong 1 variou de 24,1, 23,5, 20,6 e 20,3 para 6, 10, 14 e 16 meses de plantio, respectivamente.

Existe uma expressiva diferença entre os valores de amilose entre os autores. Estas diferenças podem ser atribuídas ao emprego de padrões de amidos de outras origens, bem como aos diferentes métodos empregados na análise de amilose.

Os resultados dos parâmetros relacionados a propriedade de expansão do polvilho azedo (volume específico, densidade específica e índice de expansão) revelam as diferenças entre as féculas (FMK e FMY) e os polvilhos azedos, entre o polvilho fermentado em laboratório seco ao sol (PASSOL) e em estufa (PASE), bem como o polvilho azedo mix preferido pelos padeiros (PAM) (Tabela 9).

As amostras de polvilho azedo obtidas em laboratório (PASE e PASSOL) apresentaram resultados para volume específico, densidade específica e índice de expansão, que indicam baixa performance e comportamento semelhante ao da fécula de mandioca.

O polvilho azedo fermentado em laboratório seco ao sol (PASSOL) apresentou expansão inferior ao polvilho azedo mix (PAM), devido às diferentes condições de

produção, mas obteve valor superior ao polvilho azedo fermentado em laboratório seco em estufa (PASE) e ambos obtiveram valores superiores aos das féculas, o que vem comprovar que a secagem ao sol é fundamental para obtenção da capacidade de expansão do polvilho azedo (Figura 23).



Figura 23 Diferença de capacidade de expansão da fécula de mandioca, polvilho azedo fermentado em laboratório seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM).

O índice de expansão aumenta proporcionalmente ao volume específico para as diferentes amostras analisadas e é inversamente proporcional a densidade específica. A amostra PAM, que corresponde a um *pool* das amostras preferidas pelos padeiros, referência como polvilho azedo de boa performance, apresentou o melhor índice de expansão ($2,00 \text{ g.mL}^{-1}$), o maior volume específico ($10,07 \text{ mL.g}^{-1}$) e a menor densidade específica ($0,10 \text{ mL.g}^{-1}$).

No presente trabalho, o índice de expansão e o volume específico foram significativamente superiores para o polvilho azedo referência mix (PAM), comparativamente aos produzidos em laboratório que foram de $1,46 \text{ g.mL}^{-1}$ e $2,72$

mL.g⁻¹ (PASE) e 1,66 g.mL⁻¹ e 5,76 mL.g⁻¹ (PASSOL) e as féculas de mandioca que foram de 1,18 g.mL⁻¹ e 2,83 mL.g⁻¹ (FMK) e de 1,19 g.mL⁻¹ e 2,85 mL.g⁻¹ (FMY).

Também o polvilho azedo fermentado em laboratório seco ao sol (PASSOL) obteve valor foi superior ao seco em estufa (PASE) o que indica a necessidade da secagem ao sol. Assim como o que foi demonstrado por pesquisadores que a luz solar, particularmente alguns comprimentos de onda juntamente com o ácido láctico da fermentação, são essenciais para a capacidade de expansão do amido de mandioca (CÁRDENAS; BUCKLE, 1980; BERTOLINI; MESTRES; COLONNA., 2000; BERTOLINI et al., 2001a).

Quanto aos valores obtidos para densidade específica, a amostra PAM obteve 0,10 mL.g⁻¹, valor significativamente inferior as amostras PASSOL (0,17 mL.g⁻¹), PASE (0,34 mL.g⁻¹) e FMK (0,36 mL.g⁻¹) e FMY (0,35 mL.g⁻¹). O PASSOL diferiu estatisticamente do PASE, comprovando, novamente, a necessidade da secagem ao sol para a propriedade de expansão.

A maioria dos trabalhos expressa o desempenho do polvilho azedo em volume específico. Os valores obtidos para volume específico em amostras de polvilho azedo foram de 10,07 mL.g⁻¹ e de 5,76 mL.g⁻¹, para o polvilho azedo mix (PAM) e fermentado em laboratório e seco ao sol (PASSOL), respectivamente. Os valores encontrados por Cereda (1983c) foram de 16,68 mL.g⁻¹, 10,70 mL.g⁻¹, 4,71 mL.g⁻¹ e 4,64 mL.g⁻¹; Oviedo e Camargo (1995) obtiveram 11 mL.g⁻¹ e 15 mL.g⁻¹; Mestres, Zakhia e Dufour (1997) encontraram 14,9 mL.g⁻¹ e observaram que a expansão do polvilho azedo seco ao sol foi de 16,7 mL.g⁻¹ quando o pH chegou a 4; Demiate et al. (2000) encontraram 10,0 mL.g⁻¹; Bertolini, Mestres e Colonna (2000) obtiveram 18,4 mL.g⁻¹; Maeda e Cereda (2001) valores de 10 a 17 mL.g⁻¹ e Apleviz e Demiate (2007) foi de 8,5 mL.g⁻¹;

Mestres, Zakhia e Dufour (1997) obtiveram $7,0 \text{ mL.g}^{-1}$ para o polvilho azedo seco em estufa, superior ao encontrado neste trabalho que foi de $2,72 \text{ mL.g}^{-1}$ para o polvilho azedo fermentado em laboratório e seco em estufa (PASE).

Os resultados obtidos neste trabalho para volume específico da fécula de mandioca foi de 2,83 e $2,85 \text{ mL.g}^{-1}$ para FMK e FMY, respectivamente. Resultado semelhante ao encontrado por Demiate et al. (2000) de $3,2 \text{ mL.g}^{-1}$ e Apleviz e Demiate (2007) foi de $3,3 \text{ mL.g}^{-1}$; Takizawa et al. (2004) obtiveram valores de $2,2 \text{ mL.g}^{-1}$; Garcia e Leonel (2005) encontraram valores de $3,0 \text{ mL.g}^{-1}$ para fécula de mandioca e menores que os obtidos por Mestres, Zakhia e Dufour (1997) obtiveram $6,3 \text{ mL.g}^{-1}$; Bertolini, Mestres e Colonna (2000) encontraram valores de $7,5 \text{ mL.g}^{-1}$.

Os valores encontrados para volume específico de amostras de fécula com adição de diferentes ácidos e diferentes irradiações, na tentativa de simular o processo fermentativo do polvilho azedo, obtidos por Vatanasuchart et al. (2003) foram de $12,23 \text{ mL.g}^{-1}$ (fécula de mandioca irradiada com UVB 9hs); $12,10 \text{ mL.g}^{-1}$ (UVC 7hs); $11,33 \text{ mL.g}^{-1}$ (UVC 9hs); $7,47 \text{ mL.g}^{-1}$ (UVC 15hs) e com pequena expansão para as féculas. Eles afirmam a existência de correlação linear entre o volume específico e o peso da massa perdida ($R^2=0,9382$), indicando que o aumento do volume específico foi induzido pela perda de água durante o assamento. Nunes (1999) obteve $12,8 \text{ mL.g}^{-1}$ para fécula acidificada com ácido láctico e irradiada com UV.

Takizawa et al. (2004) obtiveram valores de volume específico de $11,3 \text{ mL.g}^{-1}$ para fécula de mandioca oxidada por permanganato de potássio, e afirmam que a expansão está inversamente relacionada ao conteúdo de amilose e, que a presença de grupos carboxilas influenciam positivamente esta propriedade.

Leonel, Garcia e Reis (2004) obtiveram resultado de $11,51 \text{ mL.g}^{-1}$ em para o volume específico em fécula de mandioca acidificada com ácido láctico e irradiada com

UV por 30 minutos, tendo a fécula, obtido baixo volume específico. Verificaram também que não existe correlação entre expansão e teores de umidade, cinzas, açúcares totais, fibras, matéria graxa, proteína, amido, amilose e tamanho do grânulo.

Bertolini, Mestres e Colonna (2000) encontraram valores de volume específico de 8,4, 9,3, 13,2 mL.g⁻¹ para fécula acidificada, fécula irradiada, fécula acidificada e irradiada, respectivamente.

Garcia e Leonel (2005) encontraram valores de volume específico de 8,20, 9,67 e 11,57 mL.g⁻¹ para fécula acidificada com 1,3, 2,7 e 5,4 g de ácido láctico/100g de amido e para fécula irradiada com UV, respectivamente. Concluíram que a concentração de ácido láctico interfere na expansão durante o cozimento ao forno. Sugerem que a fotodegradação pela irradiação UV ou secagem ao sol, limita-se às regiões amorfas do grânulo, e que estas modificações explicariam a diferença na capacidade de expansão entre amido nativo e polvilho azedo. Bertolini et al. (2001) afirmaram que para a gelatinização do amido pelo aquecimento, a água absorvida é evaporada causando alta pressão, a qual força a expansão no amido fermentado.

Nunes e Cereda (1994) estabeleceram índices para classificar a expansão em pequena $\leq 5,0$ mL.g⁻¹, média de 5,0 a 10 mL.g⁻¹ e grande $\geq 10,0$ mL.g⁻¹. A proposta de Maeda e Cereda (2001) classifica como tipo A, o polvilho com um índice superior a 16,0 mL.g⁻¹, tipo B entre 12,0 e 16,0 mL.g⁻¹ e tipo C índices inferiores a 12,0 mL.g⁻¹.

De acordo com a classificação de Nunes e Cereda (1994) e Maeda e Cereda (2001) o polvilho PASE (2,72 mL.g⁻¹) seria classificado como de pequena expansão ou tipo C; o PASSOL (5,76 mL.g⁻¹) de média expansão ou tipo C e o PAM (10,07 mL.g⁻¹) de grande expansão ou tipo C, respectivamente.

Estas propostas não são devidamente discriminativas para afirmar sobre o melhor polvilho azedo, havendo a necessidade de definir uma forma mais precisa para

esta seleção. Pelos valores obtidos neste trabalho e pelos resultados obtidos pelos diversos autores, esta proposta não enquadra devidamente polvilhos com boa capacidade de expansão, mostrando a necessidade de uma reavaliação destes números.

O volume específico de 28 amostras de polvilho azedo, amido de mandioca acidificado com diferentes tipos e concentrações de ácidos, irradiado com diferentes irradiações UV obtidos em inúmeros trabalhos: 4,64; 4,71; 6,30; 7,00; 7,47; 7,50; 8,20; 8,40; 8,50; 9,30; 9,67; 10,0; 10,0; 10,70; 11,00; 11,30; 11,33; 11,51; 11,57; 12,10; 12,23; 13,2; 14,90; 15,00; 16,68; 16,70; 17,00; 18,40 mL.g⁻¹. (CEREDA, 1983c; PLATA OVIEDO; CAMARGO, 1995; MESTRES; ZAKHIA; DUFOUR, 1997; NUNES, 1999; DEMIATE et al., 2000; APLEVIZ; DEMIATE, 2007; MAEDA; CEREDA, 2001; VATANASUCHART et al., 2003; TAKIZAWA et al., 2004; LEONEL; GARCIA; REIS, 2004; BERTOLINI; MESTRES; COLONNA, 2000; GARCIA; LEONEL; 2005), de acordo com a classificação sugerida por Nunes e Cereda (1994), 2 amostras seriam classificadas de pequena, onze de média e quinze amostras de grande capacidade de expansão.

Na proposta de Maeda e Cereda (2001), dezenove amostras seriam classificadas como tipo C, cinco tipo B e apenas quatro consideradas tipo A.

Diferentemente dos trabalhos citados, no presente trabalho, a capacidade de expansão também foi determinada através do índice de expansão que é a diferença entre o volume final, após o assamento e o inicial (massa crua), e resulta em valores numéricos diferentes daqueles citados, relacionados ao volume específico. Esta determinação conseguiu diferenciar estatisticamente os amidos nativos (FMK e FMY) dos polvilhos azedos (PASE, PASSOL e PAM), onde obtiveram para índice de expansão os valores de 1,18, 1,19, 1,46, 1,66 e 2,00 g.mL⁻¹, respectivamente e também diferenciar os polvilhos fermentados em laboratório seco em estufa (PASE) do seco ao

sol (PASSOL), o que não foi possível na metodologia que utiliza painço, demonstrando que o método não é sensível, ou suficientemente discriminativo para realizar estas seleções entre amostras.

Demiate et al. (2000) e Silva et al. (2006) afirmam que o método de avaliação da propriedade de expansão utilizando o painço para medir o volume de deslocamento não é muito sensível e com baixa reprodutibilidade. Concordamos com esta afirmação e sugerimos que esta propriedade seja avaliada através do percentual de perda de peso do corpo de prova após o assamento, o que daria à análise maior precisão e reprodutibilidade, conforme será novamente tratado na parte II dos resultados neste trabalho.

Foi verificado que a irradiação UV induz a despolimerização do amido mais efetivamente em 254 nm do que 360 nm e, é mais extensa no amido de mandioca do que de milho. A despolimerização do polvilho azedo provavelmente diminui a viscosidade do amido fermentado em relação ao nativo, permitindo maior expansão ao assamento (BERTOLINI; MESTRES; COLONNA, 2000; BERTOLINI et al., 2001a; 2001 b).

A expansão do polvilho azedo é devida, principalmente, à diferença entre o grânulo nativo e o grânulo fermentado. Diferentemente da fécula, os grânulos do polvilho azedo, apresentam perfurações (Figura 22) devido à ação de enzimas amilolíticas, que atuam primeiramente sobre as zonas amorfas, após a parcial saída da amilose dos grânulos colocados em excesso de água no processo fermentativo (MESTRES; ROUAU, 1997; ZHOU et al., 1998; MESTRES et al., 2000; MARCON et al., 2006; 2007a; 2007b).

Segundo Bertolini, Mestres e Colonna (2000), a expansão pode envolver a reassociação de moléculas de amilose e amilopectina de tamanho reduzido nas regiões

amorfos. Esta reassociação pode provocar aumento da viscosidade, a pressão interna das bolhas aumenta drasticamente o que faz aumentar o estresse na superfície interna do material em aquecimento, o que resulta na ruptura no final da fornada (FAN; MITCHELL; BLANSHARD, 1999).

Segundo Vatanasuchart et al. (2005), a despolimerização da massa do amido hidrolisado com 1 % ácido láctico e irradiado (UVB e UVC) resultou em baixa viscosidade na parede da bolha e baixa resistência ao crescimento da mesma. Assim a expansão foi produzida pela formação de uma matriz estrutural amorfa com ligações de hidrogênio e efetiva expansão ao assamento. Quando a degradação foi mais intensa, as paredes das bolhas perderam a integridade mais cedo, romperam e não ocorreu a expansão dos amidos tratados com maior energia.

As moléculas de amilose são degradadas por UVB e, amilose e amilopectina são degradadas por UVC, e as mudanças provocadas nos períodos de 7 e 9 horas são responsáveis pela expansão do amido de mandioca no assamento. A despolimerização causou pequenos fragmentos lineares e facilitou a formação de uma região amorfa na massa de amido durante o assamento e conseqüentemente uma boa expansão. Em contraste, uma excessiva exposição a alta energia radiante (UVC), com reações destrutivas sobre a amilose e amilopectina, causaram uma estrutura sem expansão ao assamento. Já a radiação de baixa energia, UVBA também não proporcionou expansão ao assamento de acordo com os estudos de Vatanasuchart et al. (2005).

O papel do ácido láctico e seus efeitos sobre a fotodegradação não estão esclarecidos (BERTOLINI et al., 2001), pois o decréscimo do seu conteúdo após irradiação UV e exposição à luz solar pode ter ocorrido devido à fotodegradação do ácido láctico. De acordo com a hipótese de Mestres e Rouau (1997), citados por Bertolini et al. (2001), esta fotodegradação resulta na formação de produtos como

formaldeído, acetaldeído, ácido acético, peróxidos, ácido fórmico, CO, CO₂, H₂, CH₄ e ácido pirúvico, o que explicaria a presença de ácido fórmico encontrado nas amostras irradiadas.

O nível de hidrólise no processo fermentativo pode ser acompanhado pela avaliação da viscosidade intrínseca, a qual tem uma relação com o peso molecular dos polímeros de amidos (WHISTLER; PASCHAL, 1965; DEMIATE et al., 1999).

A viscosidade intrínseca das amostras (Tabela 9) apresentou diferença significativa. Os valores variaram de 196, 177, 185, 166 e 106 mL.g⁻¹ para FMK, FMY, PASSOL, PASE e PAM, respectivamente, sendo que o polvilho azedo mix (PAM) apresentou menor viscosidade intrínseca. Os polvilhos azedos PASSOL e PASE não diferiram estatisticamente das féculas de mandioca, o que já foi observado em outros parâmetros analisados, e estes polvilhos também não obtiveram boa performance na propriedade de expansão o que poderia estar relacionado com as características intrínsecas do grânulo ou com o processo de fabricação.

Desta forma, os resultados obtidos neste trabalho sugerem que os polvilhos azedos sofrem despolimerização, o que está de acordo com Zambrano, Camargo e Tavares (2001), Bertolini, Mestres e Colonna (2000), Bertolini et al. (2001).

Comparando os valores de viscosidade intrínseca encontrados por Zambrano, Camargo e Tavares (2001) que foi de 258 mL.g⁻¹ para a fécula de mandioca e de 22 mL.g⁻¹ para fécula de mandioca modificado utilizando a mesma metodologia deste estudo, foi observado decréscimo nos valores da viscosidade intrínseca do amido de mandioca modificado, em comparação com o amido de mandioca nativo. O baixo valor de viscosidade intrínseca da fécula modificada por ácido sugere, segundo Zambrano, Camargo e Tavares (2001), que a hidrólise da fécula não foi restrita apenas à superfície do grânulo, ocorrendo também na rede molecular do grânulo de amido.

O valor da viscosidade intrínseca encontrado por John e Raja (1999) para fécula de mandioca foi de 244 mL.g^{-1} ; por Bertolini, Mestres e Colonna (2000), Bertolini et al. (2001) para fécula de mandioca foi de 169 e 183 mL.g^{-1} ; para a fécula acidificada foi de 147 e 154 mL.g^{-1} ; de 154 e 173 mL.g^{-1} para irradiada com UV 254 e 360 nm, respectivamente; para a fécula irradiada com lâmpada de Hg e para acidificada e irradiada com lâmpada Hg foi de 113 e 99 mL.g^{-1} e de $85,3 \text{ mL.g}^{-1}$ para polvilho azedo comercial. Os autores afirmam que a acidificação e irradiação despolimerizam o amido e, que a despolimerização favorece a expansão ao assamento.

Os valores encontrados para viscosidade intrínseca por Bertolini et al. (2001a; 2001c) para fécula de mandioca (169 e 183 mL.g^{-1}), John e Raja (1999) foi de 244 mL.g^{-1} são próximos aos resultados do presente trabalho para as amostras de fécula de mandioca FMK e FMY ($196, 177 \text{ mL.g}^{-1}$), e dos polvilhos azedos PASE e PASSOL ($185, 166 \text{ mL.g}^{-1}$), as quais não apresentaram características de amido fermentado, quando analisados pela mudança na viscosidade intrínseca. Essas amostras de polvilho fermentado não são significativamente diferentes do amido de mandioca nativo, porém diferentes do polvilho azedo comercial (PAM).

A amostra PAM é um bom polvilho azedo e a viscosidade intrínseca de 106 mL.g^{-1} , foi semelhante aos valores encontrados por Bertolini et al.(2001c) de $85,3 \text{ mL.g}^{-1}$ em amostras de polvilho azedo e, por Bertolini et al. (2001a) trabalhando com amostras mimetizando o polvilho azedo, irradiadas e acidificadas, de 99 mL.g^{-1} .

As féculas de mandioca apresentam maior valor de viscosidade intrínseca do que os polvilhos azedos e não apresentam a propriedade de expansão ao assamento (BERTOLINI et al. 2001 a).

Alguns pesquisadores têm correlacionado diretamente as propriedades reológicas com a distribuição da massa molecular de polímeros (CHAMBERLAIN; RAO, 2000).

A massa molar do PAM foi a menor entre todas as amostras pesquisadas neste trabalho, conforme pode ser observado na Figura 24. Estes resultados indicam que o grau de polimerização diminuiu o que vai de encontro à afirmação de Bertolini et al. (2001a; 2001b) que a acidificação e a radiação solar (UV) contribuem na formação de radicais livres e despolimerização.

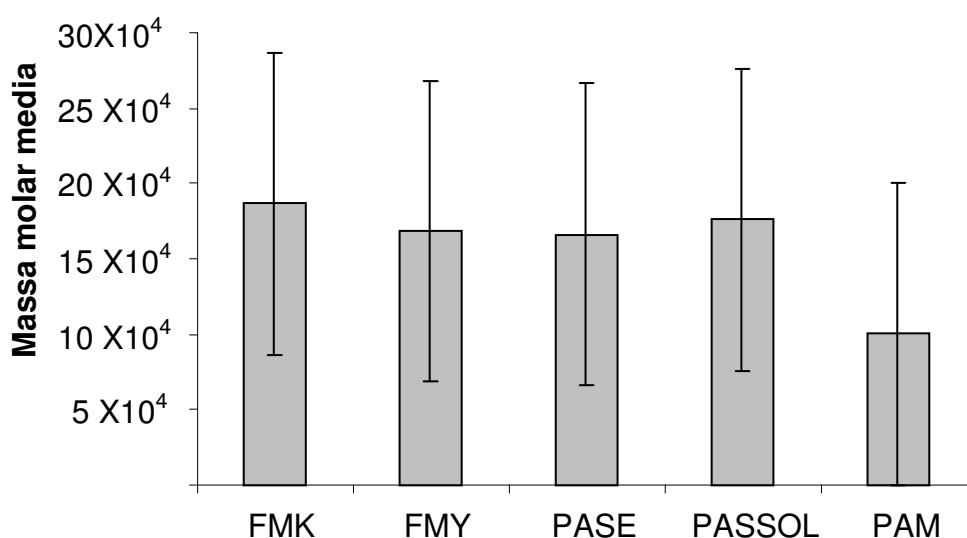


Figura 24 Massa molar média, calculada a partir dos resultados da viscosidade intrínseca para as féculas de mandioca (FMK, FMY), polvilhos azedos fermentados em laboratório seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM).

O índice de solubilização (IS) a 90°C do polvilho azedo mix (PAM) foi de 36 %, o maior em relação a todas as amostras analisadas. Os polvilhos fermentados em laboratório PASSOL e PASE, mostraram os menores valores (21,11 e 21,46% respectivamente) e as féculas de mandioca obtiveram valores de 28,84 e de 31,23 % para FMK e FMY, respectivamente.

O valor de poder de inchamento (PI) obtido a 90°C, mostrou-se menor para os polvilhos azedos mix (PAM) e fermentados em laboratório (PASSOL e PASE) em relação às féculas de mandioca (FMK e FMY) (Tabela 9). O polvilho azedo mix (PAM) obteve o menor valor (26 g.100g⁻¹) entre os fermentados que obtiveram valores de 29,8 (PASSOL) e 27 g.100g⁻¹ (PASE). Os polvilhos azedos PAM, PASSOL e PASE apresentaram menores valores de poder de inchamento que os amidos nativos de mandioca, sendo de 35 e de 31,3 g.100g⁻¹ para FMK e FMY, respectivamente.

O aumento nos valores do poder de inchamento, com o aumento da temperatura, sugere que os amidos apresentaram forças associativas internas frágeis para manter a estrutura do grânulo (PERONI; ROCHA; FRANCO, 2006). Rocha, Demiate e Franco (2008) sugerem que o maior teor de amilose limita o inchamento dos grânulos e suas propriedades de pasta.

Segundo Lindeboom, Chang e Tyler (2004), o poder de inchamento está mais associado com a estrutura do grânulo e com a composição química, particularmente o teor de amilose e lipídeos, do que com o tamanho dos grânulos.

A ação da amilose na gelatinização do amido é, ao mesmo tempo, diluente e inibidora do inchamento (SINGH et al., 2003).

Silva et al. (2006) em amostras de fécula de mandioca e amostras de amido de mandioca próprias para pão de queijo consideraram o poder de inchamento de 160 vezes e a solubilidade de 100%, porque não conseguiram separação das fases, na metodologia utilizada.

Diferentes cultivares de mandioca, apresentam amidos com diferentes poderes de inchamento (27,2, 30,6, 36,3, 40,6 e 42,3) e solubilidade (10,6, 10,9, 12,7, 16,2 e 20,2 %) (CHARLES et al., 2005). Sriroth et al. (1999) também observaram que para

diferentes cultivares e em diferentes épocas de colheita ocorrem mudanças no poder de inchamento.

Gunaratne e Hoover (2002) encontraram para poder de inchamento valores de 36,5 vezes para fécula de mandioca e 23,5 vezes para fécula de mandioca após tratamento hidrotérmico (HTM); John e Raja (1999) encontraram para fécula de mandioca o poder de inchamento de 37,5 vezes e solubilidade de 20,3 %; Takizawa et al. (2004) encontraram poder de inchamento de 34,9 vezes e solubilidade de 21,5 %.

Todos os parâmetros analisados neste trabalho mostraram diferenças estatisticamente significativas entre as féculas de mandioca e o polvilho azedo mix (PAM).

Pequenas moléculas são produzidas a partir da hidrólise da amilose e amilopectina no amido fermentado. Entretanto, os grânulos de fécula têm menor solubilidade do que o polvilho azedo (PAM), devido a presença de amilose não solubilizada na região cristalina do grânulo nativo, enquanto que a amilose do amido fermentado foi parcialmente liberada. Teoricamente, a liberação da amilose aumenta a solubilidade e diminui a densidade dos grânulos do polvilho (PAM).

Embora a liberação da amilose durante o processo de gelatinização do amido em excesso de água e presença de calor, em temperatura ambiente, seja somente citado em literatura, alguns trabalhos têm mostrado que o conteúdo de amilose diminui durante o processo de fermentação do polvilho azedo (ZHOU et al., 1998; MESTRES; ROUAU, 1997; MESTRES et al., 2000). A amilose pode diminuir pelo processo de hidrólise e passa a fazer parte do material estrutural do polvilho azedo e constitui as dextrinas do produto final na massa panificável de polvilho azedo. Esta diferença não é perceptível pelos dados apresentados na Tabela 9, uma vez que o teor de amilose não se apresentou diferente entre os amidos, o que pode ter sido causado pela sensibilidade

do método que pode estar identificando fragmentos de amilopectina como amilose. Trabalhos adicionais fazem-se necessários para esta comprovação.

De acordo com a Tabela 9 a expansão tende a aumentar com a diminuição do pH. As amiloses solúveis e outros produtos derivados da fermentação do amido contribuem como fonte de carbono para o processo fermentativo produzir ácido láctico, butírico, propiônico e outros responsáveis pela redução do pH (DEMIATE et al., 1999).

Ao deixar os tanques de fermentação, o polvilho azedo apresenta os grânulos superficialmente hidratados pela penetração parcial de água nas zonas amorfas. A redução no pH estabelece um ambiente quimicamente modificado nos grânulos do amido de mandioca fermentado. Enquanto grupos hidroxila são predominantes na superfície da fécula (WHISTLER; PASCHAL, 1965), no polvilho azedo é também possível encontrar grupos funcionais provenientes dos ácidos orgânicos, os quais formam um ambiente rico em grupos carboxílicos. Estas alterações favorecem a continuidade da hidrólise durante o processo de secagem ao sol em meio ácido, aumentando a fragilidade dos grânulos quando comparada com a dos amidos nativos, bem como possíveis reações secundárias entre as novas unidades poliméricas e o amido original (SEVENOU et al., 2002).

As féculas de mandioca não passam por estas alterações e também não apresentam a propriedade de expansão. Portanto, existe uma relação entre as alterações nos grânulos com a propriedade de expansão. Esta diferença pode ser observada na Figura 25, onde o amido nativo de mandioca apresenta reduzida propriedade de expansão comparativamente ao polvilho azedo, tanto o fermentado em laboratório seco em estufa, seco ao sol ou comercial.

O efeito da secagem ao sol foi significativo sobre o volume específico e capacidade de expansão, o que demonstra que estes parâmetros são importantes para as propriedades do polvilho azedo na panificação.

A manutenção da estrutura expandida após o cozimento pode não ocorrer; alguns amidos fermentados também resultam em produtos que podem não suportar a estrutura alveolar desejável nas massas. Podem ser encontrados no mercado roscas de polvilho com massa firme, alveolar e seca, mas também as mesmas com massa pegajosa, pouco firme, não alveolar.

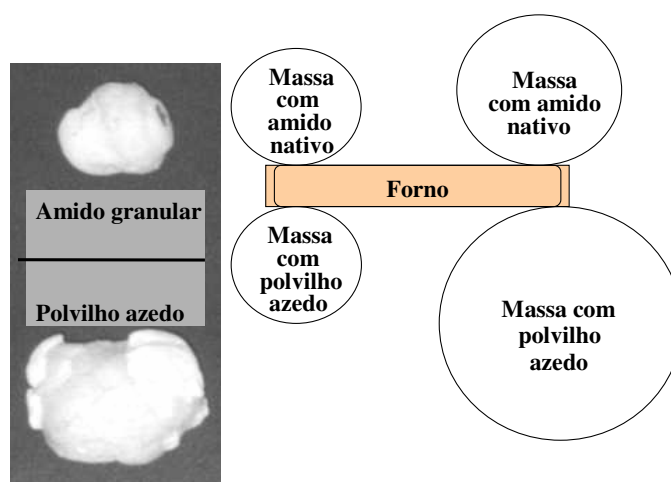


Figura 25 Comportamento do amido nativo de mandioca e do polvilho azedo em massas de panificação.

Por outro lado, existem consumidores que preferem massa firme, outros preferem massa pegajosa (Figura 26). Não existem parâmetros estabelecidos de controle de qualidade do polvilho azedo, que permitam prever o comportamento das massas obtidas com diferentes marcas de polvilho azedo.

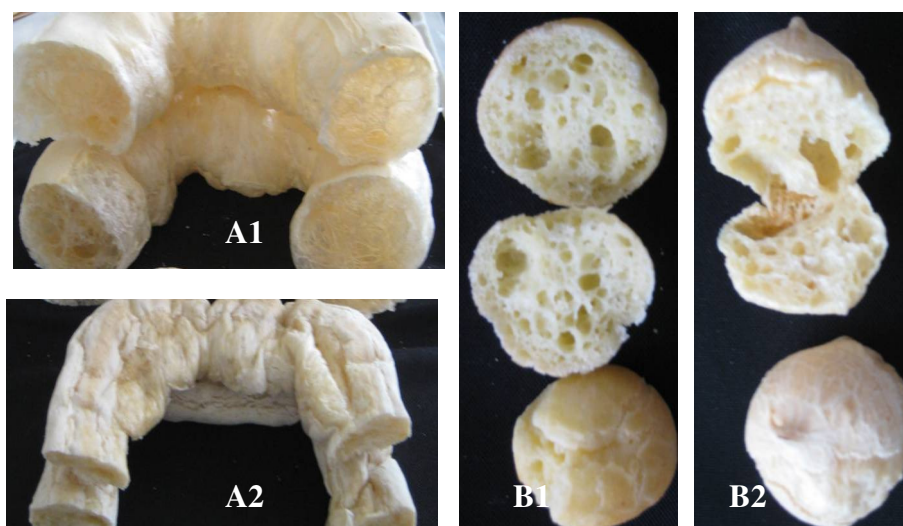


Figura 26 Aspectos diferentes para o desempenho do polvilho azedo em rosca de polvilho (A) e pães de queijo (B) com estrutura firme (1) ou gomosa (2).

Os resultados obtidos neste trabalho e os demais trabalhos publicados revelam que a avaliação de certos parâmetros como conteúdo de amilose, umidade e cinzas, não apresentam correlação com as propriedades de expansão, enquanto outros tais como pH, índice de expansão, densidade absoluta, viscosidade intrínseca e fator ácido, já podem ser usados como prenúncio para algumas iniciativas no sentido de padronizar polvilhos destinados a diferentes expectativas mercadológicas.

4.1.4 ATR-FTIR para as amostras de amidos nativos e fermentados

A fim de obter mais esclarecimentos do efeito dos tratamentos sobre as mudanças estruturais dos amidos de mandioca, a espectroscopia vibracional de infravermelho vem sendo empregada. Nos últimos anos, esta técnica vem sendo aplicada para estudar as características da amilose, amilopectina e amido fornecendo informações sobre enovelamento e a proporção da ordem das cadeias da região amorfa, por exemplo, (GOODFELLOW; WILSON, 1990; VAN SOEST et al., 1995; SEVENOU et al., 2002).

A análise dos espectros de FTIR para as amostras analisadas neste trabalho, indicou a presença de grupos funcionais predominantes de amido ($1200\text{-}800\text{ cm}^{-1}$), lipídeos (2924 , 2854 e 1740 cm^{-1}) e proteínas ($1650\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$) em todas as amostras, e pequenas diferenças, quantitativas ou estruturais, foram difíceis de detectar. Na verdade, o espectro FTIR do amido de mandioca é complexo, com muitas variáveis por amostra, dificultando a análise visual. Assim, para extrair informações úteis de todo espectro, foi necessário empregar sistema aplicativo para análise multivariada de dados, através da determinação de componentes principais (PCA) (FUKUSAKI; KOBAYASHI, 2005).

Tais aproximações analíticas podem permitir a caracterização das relações das amostras (*scores* dos planos ou eixos) e a recuperação dos seus perfis subespectrais (*loadings*). A análise de componentes principais (PCA) vem sendo utilizada de forma eficaz em muitos estudos como uma técnica de redução de dados, uma vez que preserva a variância total minimiza o quadrado médio dos erros e também é utilizada como um meio de identificar domínios de dados (MALINOWSKI, 1991; JOLLIFFE, 2002).

Os componentes principais (PCs) que descrevem as fontes de variabilidade de um conjunto de dados e nos casos em que os dados contêm várias fontes de variação, os PCs apontam para a direção da média que descreve a variação global. Assim, a análise de componentes principais (PCA) foi aplicada aos dados do FTIR dos amidos de mandioca nativos, polvilho azedo comercial, polvilho azedo seco ao sol e seco em estufa.

A Figura 27 mostra um PCA de dados espectrais FTIR ($3000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$) das amostras de fécula de mandioca (FMK e FMY), polvilho azedo mix (PAM), fermentados secos em estufa (PASE), e ao sol (PASSOL). As amostras analisadas

mostram, assim, possuir diferenças químicas em seus grânulos, que resultam em bandas espectrais específicas, segundo estas características que permite agrupá-las. A classificação das amostras resultantes da análise PCA dos dados de IR para a fécula de mandioca revelou que PC1 vs PC2 contém 99% da variabilidade de dados. Além disso, uma clara separação das amostras padrões de amidos comerciais é percebida com dois grupos detectados ao longo do eixo PC1. Os *loadings* indicaram que os grupamentos funcionais de proteínas (1557 , 1540 e 1506 cm^{-1}) podem estar associadas à discriminação dos amidos de mandioca observados.

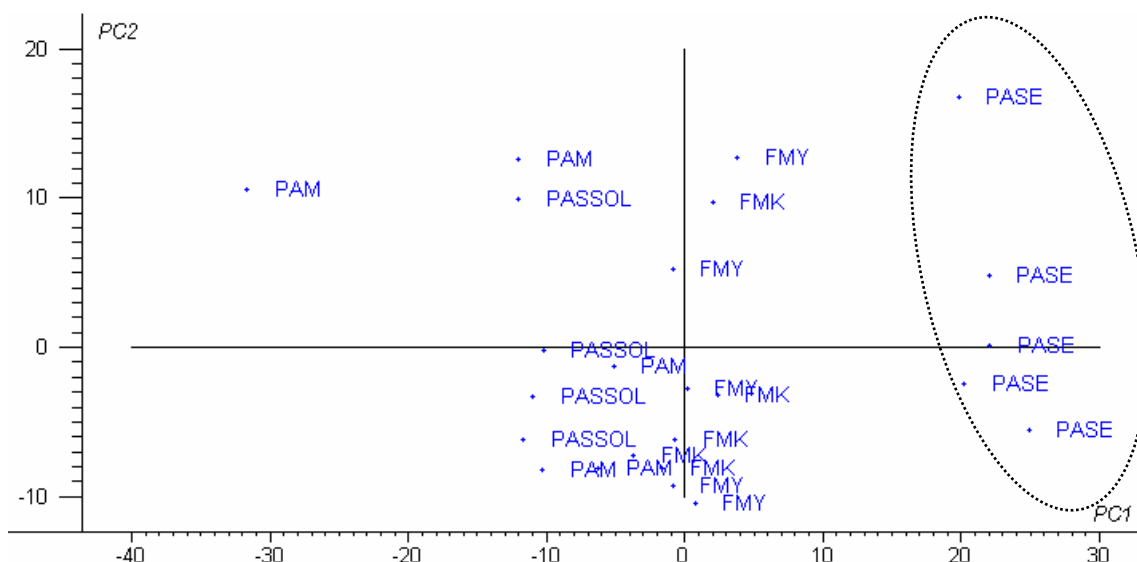


Figura 27 Plotagem dos componentes principais dos dados de FTIR para o amido de mandioca (FMK, FMY), polvilho azedo comercial (PAM), polvilho azedo seco em estufa (PASE), e polvilho azedo seco ao sol (PASSOL). Os eixos PC1 x PC2 cruzam na origem.

Segundo Demiate et al. (2000) os grupos carboxila presentes podem predizer o comportamento da expansão ao assamento. Takizawa et al. (2004) usando PCA conseguiram separar as amostras nativas e modificadas com permanganato de potássio

nas regiões espectrais de 1589-1620 e 1714-1778 cm^{-1} , devido à presença de grupos carboxila nos amidos modificados.

Sevenou et al. (2002) afirmam que o IR (ATR-FTIR) penetra aproximadamente 2 μm na amostra e, portanto, esta análise representa a região externa dos grânulos uma vez que o diâmetro médio deles é maior que este valor. Também afirmam que as absorbâncias na região de 1047/1022 cm^{-1} quantificam o grau de ordenação do grânulo, onde a banda de 1047 cm^{-1} está associada a estrutura cristalina e não é sensível a hidrólise ácida. Em amido com grau acentuado de hidrólise (7 dias ou mais) a banda 1022 cm^{-1} desaparece e predominam as regiões de 1047 cm^{-1} e de 950/1000 cm^{-1} .

A faixa de valores relativos às proteínas está de acordo com outros relatos de pesquisa mostrando que o teor de proteína é superior no polvilho azedo, comparativamente ao amido de mandioca nativo (CEREDA, 1987; ASCHERI e VILELA, 1995; PLATA-OVIEDO e CAMARGO, 1995; MARCON, 2004; MARCON et al., 2007b).

Nakamura, Moraes e Martucci (1976), Cereda e Lima (1981), Aschieri e Vilela (1995) citam valores para proteína de 0,60 a 1,83% em polvilho azedo, Plata Oviedo e Camargo (1995) de 0,40% enquanto Cárdenas e Buckle (1980) e Pereira et al.(1999) encontraram valores em torno de 0,10% e Marcon (2004) encontrou valores de 0,11 a 0,15 %. Quanto ao extrato etéreo, os valores obtidos por Marcon (2004) variam entre 0,14 a 0,21 % semelhantes aos encontrados por Pereira et al.(1999) e superiores aos encontrados por Cereda (1983a) e Aschieri e Vilela (1995).

Os resultados mostram que FTIR-ATR e PCA ajudaram a identificar as mudanças químicas estruturais nos amidos de mandioca, conduzindo a uma melhor caracterização das diferenças entre as amostras e corroborando para prever o

comportamento da massa contendo estas matérias primas. Em outras palavras, as diferenças na expansão estão previstas para ocorrer quando se comparam amidos de mandioca nativos, polvilho azedo comercial, polvilho fermentado seco em estufa e seco ao sol como revelado por FTIR e análises de componentes principais (PCAs).

Os resultados revelam que os parâmetros analisados identificaram diferenças entre eles, o que está de acordo com o esperado para o comportamento das massas empregando estas matérias primas. Ou seja, baixa expansão para os amidos nativos, média expansão para os amidos fermentados secos em estufa e expansão superior para os amidos de mandioca fermentados e secos ao sol, estas particularidades inerentes aos tipos de amidos estudados, podem estar relacionadas ao teor de proteína, peptídeos, ou grupamentos funcionais nitrogenados, o que ainda requer maiores estudos.

Está comprovado que a secagem ao sol contribui positivamente para as mudanças nos grânulos de amido fermentado, onde a redução do grau de polimerização ocorre proporcionalmente à amplitude da radiação ultravioleta. A utilização de diferentes doses de radiação nesta faixa de comprimento de onda revelou uma redução das moléculas de amilose e de amilopectina dos grânulos fermentados e secos ao sol (FIEDOROWICZ; TOMASIK; LIM, 1999; BERTOLINI et al., 2001a; 2001b; LEONEL; GARCIA; REIS, 2004; VATANASUCHART et al., 2005).

4.1.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A coesão na estrutura dos grânulos de amido de mandioca foi examinada através do DSC. Os resultados de DSC de amostras de suspensão aquosa de fécula de mandioca estão mostrados na Tabela 10.

Tabela 10 Análise térmica (DSC) de amostras de féculas de mandioca (FMK, FMY), polvilho azedo fermentado em laboratório seco em estufa (PASE), e seco ao sol (PASSOL) e polvilho azedo mix (PAM).

Amostras	Temperatura de gelatinização (°C)				ΔH^* (J/g)
	T_0^*	T_p^*	T_f^*	ΔT	
Fécula de mandioca Kanty (FMK)	58,42	76,52	114,29	55,87	5,97
Fécula de mandioca Yoki (FMY)	61,91	77,20	108,10	46,19	7,46
Polvilho azedo seco em estufa (PASE)	64,06	76,18	96,59	32,51	3,58
Polvilho azedo seco ao sol (PASSOL)	63,65	75,44	90,46	26,80	2,75
Polvilho azedo mix (PAM)	61,23	71,26	88,25	27,02	2,55

T_0 = Temperatura inicial, T_p = Temperatura de pico, T_f = Temperatura final, ΔH = entalpia, $\Delta T = T_f - T_0$.

As temperaturas de pico e final e entalpias de gelatinização, determinadas por DSC, foram menores para os polvilhos azedos, o que indica que os polvilhos necessitam de menor energia para a realização do processo de gelatinização, provavelmente pelas mudanças ocorridas durante a fermentação (Tabela 10).

É possível observar que as féculas de mandioca apesar da natureza compactada própria dos amidos não modificados, apresentam diferenças mais acentuadas na gelatinização comparativamente aos amidos fermentados estudados. Este comportamento é comprovado por inúmeros trabalhos que mostram diferença na forma, no tamanho e nos padrões de difração de raios X, sendo próprio dos amidos os efeitos significativos dos locais de plantio, clima, idade da planta, épocas de colheita e inúmeros outros fatores (BULÉON et al., 1998; KITAHARA; COPELAND, 2004; MARCON, 2004; PERONI et al., 2006; TECTCHI et al., 2007).

A temperatura final é outro parâmetro que expressa as diferenças entre os grânulos estudados, sendo os polvilhos azedos seco ao sol (PAM e PASSOL) mais facilmente gelatinizado do que os demais (menor energia de gelatinização), isto poderia ser devido a fragmentação das cadeias poliméricas.

Estes resultados são indicativos de que o polvilho azedo em comparação com a fécula de mandioca mostra propriedade de expansão durante o assamento, devido á provável alteração da estrutura polimérica. Em consequência desta despolimerização, há formação de uma estrutura que permite o controle da difusão da água durante o assamento, formando uma estrutura alveolar.

A energia de gelatinização mostrou resultados típicos deste tipo de polímero. Os valores encontrados para a temperatura inicial de gelatinização (T_0) por Peroni et al. (2006), Paes, Yakimets e Mitchell (2007), Silva et al. (2006), Huang et al. (2007), para amostras de fécula de mandioca foram de 61,55, 62,7, 63,2, 64,5, 57,9 °C, respectivamente, a temperatura de pico (T_p) foi de 66, 68, 70,6, 66,5 °C e temperatura final (T_f) de 72,94, 78,7, 69,9 °C, respectivamente, A variação de entalpia foi de 10,4 (J/g) (PERONI et al., 2006), 11,5 (J/g) (HUANG et al., 2007). Freitas et al. (2004) encontraram diferentes temperaturas de gelatinização para fécula de mandioca de 50,5, 51,0, 52,0, 51,5°C em períodos de aquecimento de 2,5; 3; 4 e 5 °C min⁻¹ respectivamente e a entalpia variou de 6,5 a 8,5 J.g⁻¹. Gunaratne e Hoover (2002) encontraram valores de 63 e 66,4°C para a temperatura inicial de gelatinização (T_0) e, 71,5 e 79,1°C para a temperatura de pico, (T_p) e, ΔH de 12,3 e 11,7 J.g⁻¹ para fécula de mandioca e fécula de mandioca hidrotermicamente tratada (HTM). Entre os amidos analisados (inhame, lentilha e batata) o de mandioca obteve menor índice de retrogradação.

Li e Yeh (2001) encontraram T_0 de 64,5°C; T_p de 71,0°C e ΔH de 13,0 J.g⁻¹ para fécula de mandioca. Afirmam que o poder de inchamento tem alta correlação com T/T_p para cada amido individual e que T_p seria um bom indicador do efeito da temperatura, e concluíram que T_p é um ponto crítico na ruptura do grânulo de amido. O poder de inchamento é um índice característico do amido. O T_p apresenta efeito

negativo sobre o poder de inchamento. As moléculas de amido rompidas se expõem mais a água, portanto T_p maior, mais lenta a ruptura dos grânulos e conseqüentemente a absorção de água. Encontraram correlação positiva entre o tamanho médio dos grânulos e o poder de inchamento.

Os valores encontrados neste trabalho para a temperatura inicial foram de 58,42 e de 61,91 °C, para temperatura de pico de 76,52 e 77,20 °C e para temperatura final as amostras alcançaram 114,29 e 108,10 °C para as féculas FMK e FMY, respectivamente. Os valores obtidos para a variação de entalpia neste trabalho foram de 5,97 para FMK e de 7,46 °C min⁻¹ para FMY, semelhantes aos encontrados por Freitas et al. (2004) e inferiores aos valores de Gunaratne e Hoover (2002), Peroni et al. (2006) e de Hung et al. (2007).

Jane et al. (1999) encontraram 68,3 °C para temperatura de pico de gelatinização de fécula de mandioca e Karam (2003) que 70,0 °C, valores inferiores aos obtidos neste trabalho.

Para os polvilhos azedos, os valores obtidos de temperatura inicial de gelatinização foi de 61,23, 63,65 e 64,06 °C, para temperatura de pico foi de 71,26, 75,44 e 76,18 °C, para temperatura final obteve 88,25, 90,46 e 96,59 °C e para entalpia valores de 2,55, 2,75, 3,58 °C min⁻¹ para PAM, PASSOL e PASE, respectivamente. Os valores encontrados por Gomes, Mendes da Silva e Ricardo (2005) para polvilho azedo foram de 61,7 °C para T_o , de 69,4 °C para T_p , de 71,9°C para T_f e variação de entalpia de 3,3 (J.g⁻¹).

Segundo Rocha, Demiate e Franco (2008) o maior teor de amilose pode contribuir para menores temperaturas de gelatinização do amido, uma vez que maiores proporções de regiões amorfas estariam presentes nos grânulos, diminuindo o ponto de fusão das regiões cristalinas. A redução da entalpia de gelatinização pode estar

relacionada com a geração de polímeros com massas menores, como produtos da hidrólise do amido na obtenção do polvilho azedo.

De acordo com Tester (1997), a extensão de perfeições cristalinas é refletida na faixa de temperatura de gelatinização obtida por DSC.

As faixas de temperatura de gelatinização ($T_f - T_i$) apresentadas para os amidos de mandioquinha salsa de diferentes variedades foram de 7 e 7,39 °C. Estas faixas são mais estreitas que as apresentadas por outros amidos como, por exemplo, 20°C para amido de batata, encontrado por Garcia e Walter (1998) e, que estes resultados sugerem uma maior perfeição e homogeneidade dos cristais no amido de mandioquinha salsa (ROCHA; DEMIATE; FRANCO, 2008). Isto indica que os polvilhos azedos possuem maior perfeição e homogeneidade dos cristais, quando comparados com a fécula de mandioca, cujas faixas de temperatura de gelatinização foram de 26,81; 27,02; 32,51; 46,19 e 55,87 °C para as amostras PASSOL, PAM, PASE, FMY e FMK, respectivamente.

As análises de DSC os valores de entalpia aos encontrados para fécula de mandioca foram similares aos obtidos para fécula de mandioca irradiada e acidificada (BERTOLINI et al., 2001c). Também Vatanasuchart et al. (2005) concluíram que as mudanças degradativas nas moléculas de amido acidificados e irradiados em diferentes tempos com UVB e UVC, não afetaram os valores típicos da entalpia de transição do amido de mandioca, visto que o padrão de DSC dos amidos modificados foi similar aos da fécula de mandioca, diferentemente deste trabalho em que os valores de entalpia e faixa de gelatinização mudaram significativamente entre os polvilhos e os amidos de mandioca nativos.

Segundo Lacerda (2006) as análises de DSC ilustram com precisão um evento particular aos amidos de grande importância para a indústria: a gelatinização e que os

resultados mostram que os picos praticamente não sofreram deslocamento na comparação do estado nativo com o avanço da hidrólise (Tabela 11). No entanto, a observação do aumento de entalpia requerida ao processo, evidencia que há uma crescente proporcionalidade de material com característica cristalina, encontrado a cada observação.

Tabela 11 Variações nas propriedades calorimétricas do amido de mandioca nativo e em diferentes tempos de avaliação.

Amido de mandioca	Nativo	Após 1 h	Após 2 h	Após 3 h
T. inicial (°C)	57,92	56,81	56,97	58,84
T. pico (°C)	63,43	62,84	62,67	62,64
Entalpia ΔH (J.g ⁻¹)	12,89	13,44	13,18	23,62

Fonte: Lacerda (2006).

Os resultados indicam que o polvilho azedo, comparativamente a fécula de mandioca, apresenta a propriedade de expansão durante a formação da massa da rosca de polvilho e do pão de queijo, devido a um enfraquecimento na estrutura polimérica. Como consequência desta despolimerização, ocorre a formação de uma estrutura que permite a eliminação controlada de água durante a fornada, que forma uma estrutura alveolar. Este comportamento não se observa na fécula de mandioca, porque o amido gelatinizado, provavelmente, retém água em uma matriz polimérica, que forma, com a água de formulação, ligações de hidrogênio da água com as hidroxilas do amido, enquanto no polvilho azedo além das ligações água - hidroxilas do amido, prevalecem as moléculas hidrolisadas derivadas das amiloses e amilopectinas, além dos ácidos orgânicos que também sofreram mudanças durante a secagem ao sol

Alguns autores afirmam que a fermentação e acidificação da fécula de mandioca não alteram sua cristalinidade e a entalpia de gelatinização, e que, portanto,

não seriam análises adequadas para diagnóstico de polvilho de boa expansão (BERTOLINI et al., 2001a; 2001b), o que não foi confirmado na etapa I deste trabalho onde os polvilhos azedos obtiveram valores menores de entalpia do que as féculas de mandioca.

4.1.6 Difração de raios X

Outro importante recurso para mostrar a estrutura cristalina é a difração de raios X. Nos padrões cristalográficos propostos por Mestres (1996), os grânulos de amido apresentam as seguintes características quanto ao tipo: tipo A – apresentam maiores picos de intensidade de refração para os ângulos 2θ a 15, 17, 18 e 23 Å; tipo B – a 5,6, 15, 17, 18 e 23 Å e tipo C - uma mistura dos tipos A e B.

Foi observado na literatura, que não há uniformidade na classificação dos padrões de raios X, onde segundo Thomas e Atwell (1999) os cereais, por exemplo, trigo, milho e arroz apresentam padrão A; os amidos de tuberosas como batata, apresentam padrão B; a ervilha, mandioca e o feijão apresentam padrão C. Biliaderis (1992) afirma que amidos de tuberosas como a mandioca e a batata, as frutas, milho com alto teor de amilose e amidos retrogradados apresentam o padrão A, que o padrão B é de amidos de cereais e o C é típico de leguminosas.

O padrão de difração de raios X dos amidos estudados (Figura 28), de acordo com a proposta de Mestres (1996), foi o padrão tipo A para todas as amostras. Este resultado sugere que a fermentação não altera o padrão de cristalinidade uma vez que as féculas de mandioca e dos polvilhos azedos apresentaram o mesmo padrão.

. No entanto, são observadas algumas diferenças na intensidade dos picos e alterações no ângulo 2θ entre as amostras (Tabela 12). Observa-se também nas amostras PASSOL e PAM um pequeno pico na região em torno de 5^0 , o que poderia

indicar diferenças cristalográficas entre as amostras, em especial para moléculas com menor massa molar. Estudos posteriores fazem-se necessários para a identificação destas moléculas que resultam em padrão de difração de raios X, com características de um outro padrão (B ou C) para as amostras PASSOL e PAM.

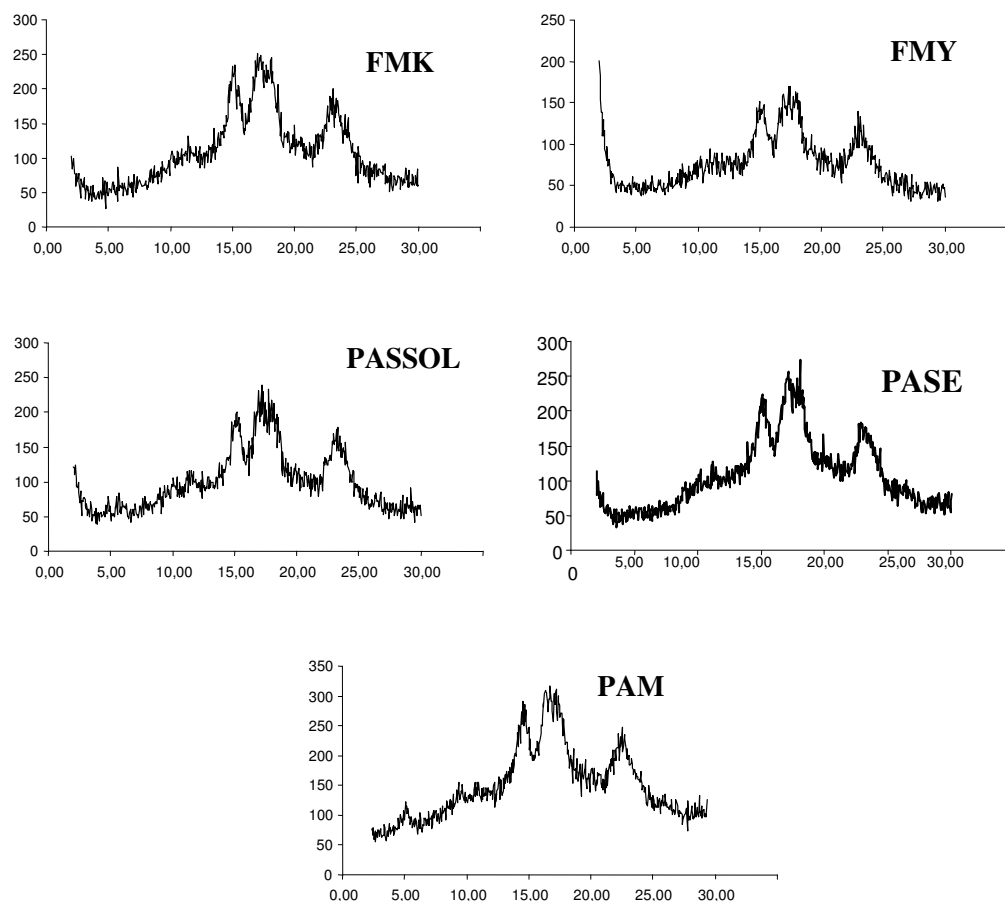


Figura 28 Perfis de difração de raios X dos amidos de mandioca nativos (FMK e FMY), polvilho azedo seco ao sol (PASSOL), seco em estufa (PASE) e polvilho azedo comercial (PAM).

Os pesquisadores concordam que a fermentação não altera a cristalinidade da fécula e do polvilho azedo, porém há divergências quanto ao tipo de padrão encontrado onde são citados padrões tipo A, B e C. Os grânulos de fécula de mandioca nativa e modificada por fosfatização e acetilação (SEGURA; SIRA, 2003) e, após

tratamento hidrotérmico (HTM) (SHARIFFA et al., 2009); após tratamento com ácido oxálico, malônico e succínico (JOHN; RAJA, 1999); após tratamento com ácido clorídrico (ZAMBRANO; CAMARGO; TAVARES, 2001) e Vatanasuchart et al. (2003) para féculas de mandioca nativa, féculas acidificadas e irradiadas em diferentes tempos com UVB e UVC, apresentaram padrão de cristalinidade tipo A e não sofreram modificação quanto ao padrão de difração de raios X encontrado e, por isso afirmam que somente as regiões amorfas foram afetadas pelos tratamentos.

Rocha, Demiate e Franco (2008) encontraram padrão de difração das amostras de fécula de mandioca como tipo B, com os picos principais exibidos a 5,7, 15, 17,2, 19,8, 22,6 e 24,4° em 2θ . Segundo Hoover (2001), a maioria dos amidos de raízes e tuberosas possui padrão de difração de raios X do tipo B. Algumas exceções são os amidos de batata doce (*Ipomoea batatas*) (tipo A e C), de mandioca (*Manihot esculenta*) (tipo A, C e CA) e inhame (*Discorea dumetorum*) (tipo A).

Atichokudomchai, Varavinit e Chinachoti (2004), também observaram que a modificação ácida não afeta a estrutura de empacotamento das duplas hélices nas regiões cristalinas ao analisarem por RMN ^{13}C de fécula de mandioca nativa e modificada por ácido. Este padrão não é uniforme, conforme citado por Gomes, Mendes da Silva e Ricardo (2005). Moorthy e Mathew (1998), Franco, Ciacco e Tavares (1988) e Plata Oviedo e Camargo (1998) encontraram padrões tipo A, B, C e C_B, respectivamente.

Bertolini et al. (2001) encontraram padrão C (picos 15,17,18,1, 22, 23,3 e 24°) e afirmam que não ocorre mudança do padrão de raios X entre fécula de mandioca nativa e a fécula acidificada e irradiada. Acidificação e UV não modificam o comportamento na análise por DSC nem por difração de raios X. O mesmo foi

encontrado por Mestres e Rouau (1997) e Plata Oviedo e Camargo (1998), analisando por DSC fécula de mandioca e polvilho azedo.

Zambrano, Camargo e Tavares (2001) observaram que a fécula de mandioca modificada (hidrolisada com 3,5 % HCl) manteve o padrão de cristalinidade tipo A da fécula sem modificação, apresentando, no entanto, maior cristalinidade relativa que para a fécula. Segundo os autores, isso sugere que durante a hidrólise da fécula de mandioca, ocorreu preferencialmente na região amorfa dos grânulos, o que permitiu a reorganização dos segmentos das cadeias e a formação de estruturas mais cristalinas (anelamento) (BILIADERIS; GRANT; VOSE, 1981).

Segundo Atichokudomachai, Varavinit e Chinachoti (2004), a água tem um significativo efeito sobre as propriedades moleculares do amido. A presença ou ausência de água residual pode levar a formação helicoidal de cadeias lineares e aumentar a cristalinidade, levando a mudanças nos padrões de difração de raios X

A Tabela 12 apresenta os principais picos encontrados nos difratogramas de raios X obtidos para as féculas de mandioca (FMY e FMK), para os polvilhos azedos secos ao sol (PASSOL) e seco em estufa (PASE) e para o polvilho azedo mix (PAM) onde se observam diferenças nos ângulos e intensidade dos picos.

Tabela 12 Intensidades dos principais picos dos difratogramas de raios X das féculas de mandioca (FMK e FMY) e dos polvilhos azedos seco em estufa (PASE), seco ao sol (PASSOL) e mix (PAM).

2 θ	Intensidade				
	FMY	FMK	PASE	PASSOL	PAM
15° (14,98° – 15,03°)	151 - 129	233 - 222	197 - 217	180 - 188	252 - 271
17° (16,98° – 17,03°)	150 - 144	252 - 239	242 - 246	186 - 215	288 - 286
18° (17,98° – 18,03°)	150 - 162	215 - 224	221 - 208	217 - 200	279 - 269
23° (22,98° – 23,03°)	140 - 115	187 - 169	182 - 168	169 - 154	170 - 210

Do ponto de vista geral, a intensidade dos picos foi diferente entre os amidos estudados neste trabalho, mostrando um perfil distinto, apesar de serem classificados com o mesmo tipo padrão, indicando diferenças cristalográficas entre as amostras, o que já é esperado entre amidos nativos, e mais pronunciado para amidos fermentados.

Os resultados da difração de raios X mostraram que o polvilho azedo mix (PAM) apresentou os valores de todos os picos maiores que todas as amostras analisadas o que poderia ser explicado por novas ligações entre pequenas moléculas em ambiente ácido. Segundo Vieira (2004) o aumento da intensidade do pico sugere aumento da cristalinidade dos grânulos.

O grau de cristalinidade de amidos nativos varia de 15 a 45 % (CHEETHAM; TAO, 1998). Como a cristalinidade dos grânulos está associada ao teor de amilose e amilopectina, esta grande variação no grau de cristalinidade, constitui-se em um outro indicativo das diferentes proporções entre amilose e amilopectina nos grânulos de amido. Os amidos estudados neste trabalho não apresentaram diferença significativa quanto ao teor de amilose. Porém, convertendo os valores encontrados nos estudos da viscosidade intrínseca, em massa molecular, os resultados ilustrados na Figura 23 estão coerentes com a redução do tamanho das moléculas dos polímeros amilose e amilopectina durante a fermentação do amido de mandioca.

Os índices de cristalinidade (IC) dos amidos estudados foram de 32,72, 37,85, 39,45, 25,90 e 34,08% para FMK, FMY, PASSOL, PASE e PAM, respectivamente.

O índice de cristalinidade relativa para fécula de mandioca, encontrado por Gunaratne e Hoover (2002) que foi de 37%; Ratnayake e Jackson (2007) 31% e Paes, Yakimets e Mitchell (2007) encontraram 25,6%. Vatanasuchart (2004) citado em Vatanasuchart et al. (2005) estudaram amidos de mandioca que sofreram tratamento de acidificação e diferentes tempos de irradiação UV. Os valores obtidos no tratamento

após 9 h de exposição à radiação de UV foram 31,5, 31,0, 32,0 e 30,5 % para as amostras secas em estufa, irradiadas com UVA, UVB e UVC, respectivamente, enquanto que nos amidos tratados por 15 h ocorreu um aumento para 33,5, 34,5, 34,0 e 34,5 %, respectivamente. Segundo Vatanasuchart et al. (2005) a degradação induzida pelo UV por 15 h acarretou a formação de um cristal mais perfeito.

4.1.7 Desenho do mecanismo de expansão do polvilho azedo

A expansão do polvilho azedo se deve principalmente à diferença entre os grânulos de amido de mandioca nativo e fermentado. A principal diferença é que os grânulos fermentados mostram perfurações, devido à ação de enzimas amilolíticas que atingem em primeiro lugar a zona amorfa após parcial redução da amilose dos grânulos de amido durante o processo úmido de produção do polvilho azedo (MESTRES; ROUAU; 1997; MESTRES et al., 2000; MARCON et al., 2007).

Tanto a amilose, predominantemente linear, quanto as regiões lineares da amilopectina, respondem pela cristalinidade dos grânulos, inicialmente a difusão da amilose pode resultar em novas regiões disponíveis para a ação das enzimas dentro do grânulo. A fécula de mandioca não sofre estas alterações e nem mostra a propriedade de expansão. Portanto, parece haver uma relação entre essas mudanças nos grânulos e a propriedade de expansão.

Estes amidos modificados, utilizados na produção da massa de pão de queijo e roscas, têm diversos comportamentos após o cozimento que podem ser uma massa firme, alveolar e seca, ou uma massa macia, não alveolar e gomosa. A manutenção da estrutura expandida após o cozimento pode não ocorrer. Alguns polvilhos azedos também resultam em produtos que podem não suportar a estrutura alveolar desejável para a massa. Na ciência dos alimentos, não existem parâmetros definidos para

controle de qualidade de polvilho azedo que permitam uma previsão do comportamento dos diferentes tipos de massa feitas com polvilho azedo.

Os resultados deste trabalho e de outros revelam que a avaliação de alguns parâmetros não mostra correlação com a propriedade de expansão (CÁRDENAS, BUCKLE, 1980; NUNES, 1994; ASCHERI e VILELA, 1995; PLATA-OVIEDO e CAMARGO, 1995; MESTRES e ROUAU, 1997; DEMIATE et al., 2000; MESTRES et al., 2000; GUYOT E MORLON-GUYOT, 2001; PEREIRA et al., 1999), enquanto outros ainda podem ser utilizados como um meio de previsão, visando a padronização de polvilho azedo, de acordo com as expectativas dos vários panificadores e produtores de polvilho azedo.

Em conjunto, os resultados encontrados indicam que a estrutura do grânulo de amido fermentado está alterada. Quais modificações estão relacionadas com a propriedade de expansão, é a principal questão. Com base na estrutura interna do grânulo (BULÉON et al., 1998), é possível apresentar uma proposta com a intenção de mostrar o mecanismo de modificação do grânulo do polvilho azedo durante a secagem ao sol e as principais variáveis diretamente responsáveis por maximizar a sua propriedade de expansão (Figura 29).

A presença de amilose e amilopectina fez com que os grânulos nativos tenham carga superficial negativa devido à existência de numerosas hidroxilas as quais são predominantes na superfície dos grânulos de amido; a propriedade de dilatação é uma consequência deste cenário estrutural (DEMIATE et al., 1999).

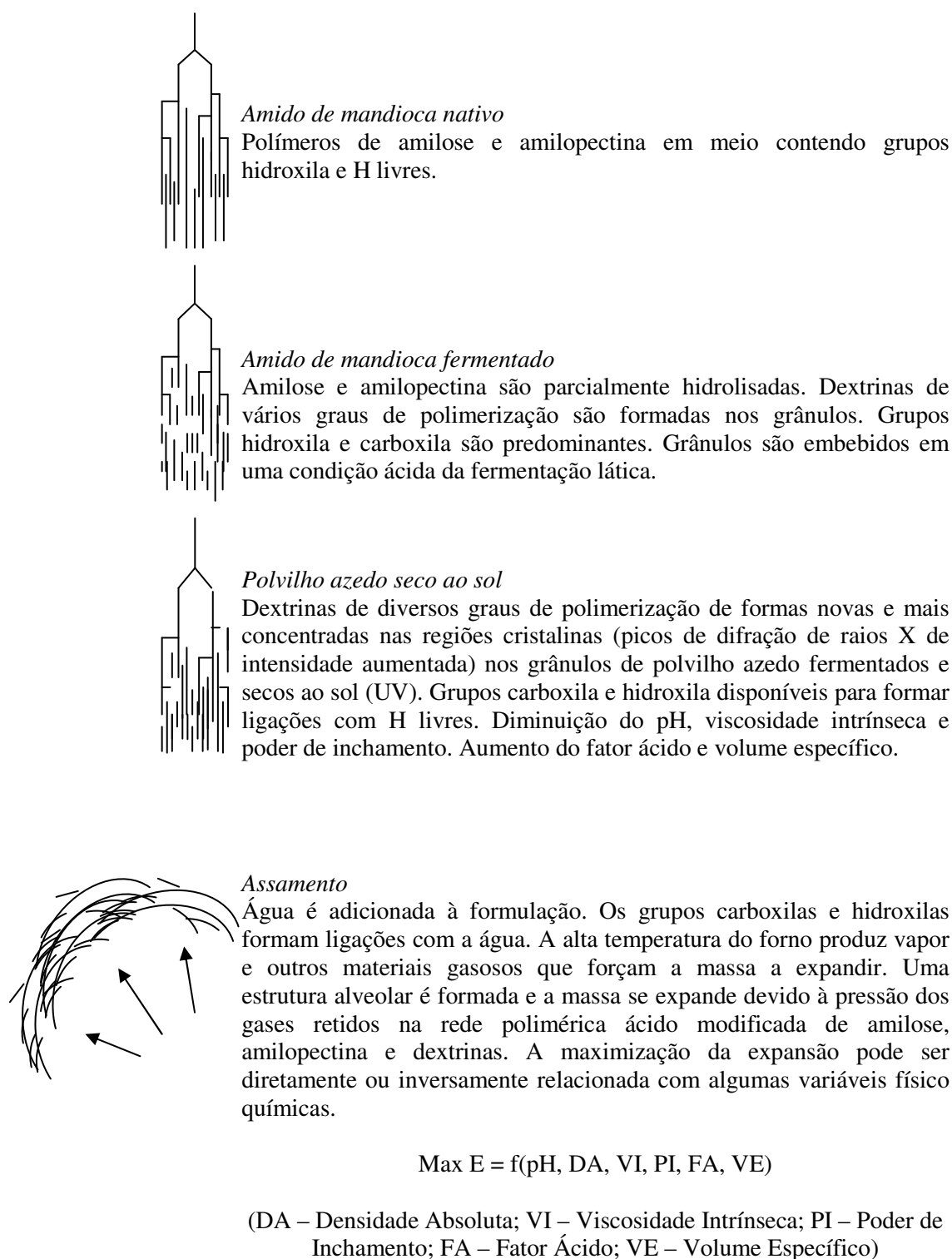


Figura 29 Cenário estimativo do mecanismo de modificação química do polvilho azedo.

Após a fermentação, os grânulos de polvilho azedo são secos com uma superfície polimérica envolvida com ácidos orgânicos provenientes da fermentação. Portanto, além das hidroxilas das amiloses e amilopectinas, a presença de dextrinas e carboxilas são evidentes. Este fato também foi demonstrado por diversos autores (DEMIATE et al. 2000; MESTRES et al., 2000; BERTOLINI et al., 2001a ; SILVA et al., 2006).

Maximizar a expansão pode depender do grau de polimerização do polvilho azedo, do número de hidroxilas e carbonilas, do pH, da densidade do grânulo, e outros parâmetros que apresentaram correlação significativa, seja positiva ou negativa, com a expansão da massa e das suas características após cozimento e armazenamento.

4.2 Etapa II

A Tabela 13 ilustra os resultados encontrados para as variáveis que podem ser importantes para prever a expansão do polvilho azedo. Foram construídos gráficos de correlação entre as demais variáveis e o índice de expansão, visando identificar aquelas mais significativas para prever o comportamento do polvilho azedo.

Tabela 13 Características físico químicas das amostras de féculas de mandioca, polvilhos azedos comerciais e polvilhos azedos fermentados em laboratório.

AMOSTRAS	PARÂMETROS							
	Amilose (g.100 ⁻¹ g)	PI* (g.100 ⁻¹ g)	IS* (g.100 ⁻¹ g)	pH	FA* mL HCl N	IE* (g.mL ⁻¹)	DE* (g.mL ⁻¹)	VE* (mL.g ⁻¹)
FM1	15,65±1,35	20,32±0,15		4,63±0,01	1,93±0,03	1,41±0,08	0,33±0,05	3,12±0,47
FM2	16,09±0,45	18,47±0,69		5,07±0,03	2,30±0,03	1,49±0,12	0,35±0,02	2,86±0,13
FM3	16,69±1,33	19,80±1,14		5,98±0,03	4,07±0,01	1,46±0,10	0,31±0,06	2,92±0,01
FMK	15,72±0,24	34,92±2,09	28,84±1,74	6,10±0,02	1,70±0,02	1,18±0,02	0,36±0,01	2,83±0,06
FMY	15,28±0,20	31,30±1,53	31,23±1,62	4,97±0,02	2,06±0,02	1,19±0,01	0,35±0,01	2,85±0,05
PAC 1	18,04±0,86	29,48±0,52	7,48±1,34	3,87±0,01	3,25±0,01	2,12±0,14	0,10±0,01	10,06±0,53
PAC2	17,73±0,89	29,70±0,66	6,60±0,69	4,27±0,02	4,36±0,03	2,07±0,13	0,10±0,01	10,52±0,90
PAC3	17,42±0,38	18,34±0,21	10,23±1,24	3,77±0,02	3,87±0,03	2,16±0,04	0,10±0,01	10,02±0,59
PAM	16,00±0,17	25,99±0,77	36,05±0,84	3,73±0,02	2,83±0,03	2,00±0,07	0,10±0,01	10,07±0,23
PAR1		21,58±0,25	36,76±1,31	3,47±0,01	3,62±0,03	1,91±0,03	0,10±0,01	9,70±0,08
PAR2		24,03±1,63	29,41±5,21	4,18±0,01	3,17±0,13	2,01±0,10	0,10±0,01	9,86±0,29
PAR3		20,52±2,16	33,99±3,18	3,65±0,01	4,20±0,05	1,93±0,02	0,10±0,01	9,80±0,20
PAL1	15,97±0,62	29,75±1,36	2,44±1,30	4,13±0,04	2,34±0,07	2,18±0,01	0,10±0,01	10,49±0,42
PAL2	19,37±2,22	29,69±0,13	3,92±0,35	4,14±0,06	2,24±0,08	2,18±0,14	0,10±0,01	10,19±0,75
PAL3	15,87±0,17	30,21±0,19	4,14±0,71	4,09±0,04	1,86±0,04	2,14±0,06	0,11±0,01	9,33±0,45
PAL4	18,06±0,63	30,05±0,32	4,36±0,36	4,15±0,07	1,93±0,02	2,19±0,01	0,11±0,01	9,71±0,15
PAL5	19,50±1,99	30,49±0,93	9,79±0,23	4,58±0,36	3,09±0,73	2,09±0,09	0,12±0,01	8,43±0,66
PAL6	20,22±0,89	30,51±1,02	6,94±0,55	4,00±0,15	1,60±0,26	2,12±0,02	0,11±0,01	9,39±0,52
PAL7	19,00±0,33	29,03±0,43	10,06±0,10	4,27±0,16	1,87±0,05	2,12±0,05	0,11±0,01	9,85±0,08
PAL8	18,93±0,11	29,52±0,32	8,00±0,89	3,93±0,12	1,65±0,18	2,21±0,06	0,10±0,01	10,35±0,69
PAL9	18,29±0,10	30,46±0,95	3,48±0,66	4,05±0,15	1,56±0,24	2,23±0,02	0,10±0,01	10,17±0,39
PAL10	18,68±0,34	30,47±1,65	5,23±0,62	4,13±0,14	1,77±0,08	2,19±0,03	0,09±0,01	10,52±0,16
PAL11	19,37±1,56	30,84±0,32	4,26±0,54	4,05±0,02	1,80±0,10	2,23±0,06	0,10±0,01	10,39±0,75
PAL12	17,52±0,52	30,84±0,71	6,11±1,04	4,16±0,14	1,86±0,02	2,24±0,10	0,11±0,01	9,64±0,12
PASSOL	15,75±0,29	29,83±1,95	22,11±2,63	4,36±0,04	1,55±0,01	1,66±0,07	0,17±0,01	5,76±0,27
PASE	15,97±0,08	27,03±0,74	21,49±0,79	4,76±0,47	1,63±0,06	1,46±0,03	0,34±0,01	2,72±0,24

*PI = poder de inchamento, IS = índice de solubilização, FA = fator ácido, IE = índice de expansão, DE = densidade específica, VE = volume específico.

O poder de inchamento é uma variável com importante relação com o índice de expansão, de acordo com os resultados preliminares encontrados na etapa I deste trabalho. Como consequência da despolimerização do grânulo de amido, o polvilho

azedo mostrou baixo poder de inchamento com aumento do poder de expansão, o que está de acordo com o encontrado por Bertolini et al. (2001); Sevenou et al. (2002) e Vatanasuchart et al. (2005).

Utilizando os dados de todas as amostras do estudo (Tabela 13) polvilhos azedos comerciais, produzidos em laboratório e féculas de mandioca, o coeficiente de correlação entre o índice de expansão e poder de inchamento foi de aproximadamente -0,34 (Figura 30).

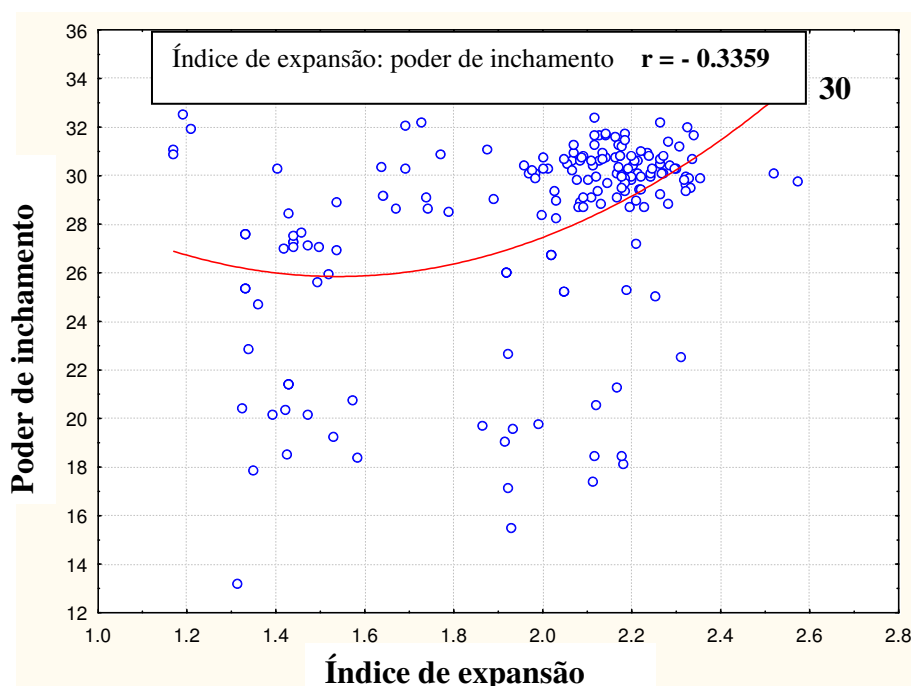


Figura 30 Relação do poder de inchamento com o índice de expansão do total de amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos.

Quando analisados os melhores polvilhos (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAM, PAR 1, PAR 2 e PAR 3) e as féculas de mandioca (FM 1, FM 2, FM 3, FMY e FMK) o coeficiente de correlação encontrado foi de aproximadamente -0,77 (Figura 31), indicando uma correlação boa, revelando que o poder de inchamento dos grânulos de amido, está inversamente relacionado com o poder de expansão.

Ao longo dos últimos anos, vários estudos têm sido publicados sobre redes poliméricas naturais e sintéticas em relação ao efeito de suas massas moleculares, no entanto, nenhum deles focou sobre a relação entre o poder de inchamento e o índice de expansão do polvilho azedo.

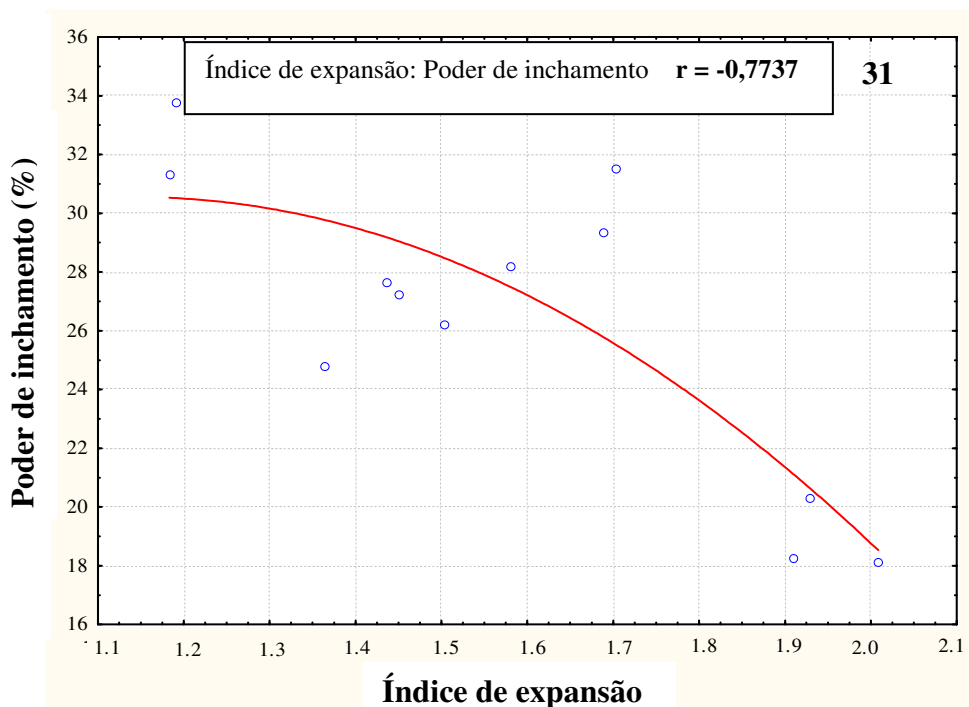


Figura 31 Relação do poder de inchamento com o índice de expansão das amostras de féculas de mandioca (FM 1, FM 2, FM 3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAM, PAR 1, PAR 2 e PAR 3).

Os estudos com as variáveis densidade, pH, fator ácido, volume específico e viscosidade intrínseca podem oferecer melhores respostas para prever o comportamento de expansão do polvilho azedo.

A redução do pH, como consequência do processo de fermentação, é um evento conhecido na produção do polvilho azedo. Estes produtos fermentados apresentam uma faixa característica de pH baixo, quando comparados as féculas de mandioca (PLATA OVIEDO; CAMARGO, 1995; DEMIATE et al. , 1999; TAKIZAWA et al., 2004; MARCON et al., 2007; GARCIA; LEONEL, 2005).

A Figura 32 ilustra a relação entre o pH e o índice de expansão para todas as amostras analisadas, com um coeficiente de correlação de aproximadamente -0,68 nesta amplitude de amostragem, revelando que a expansão aumenta com a redução do pH.

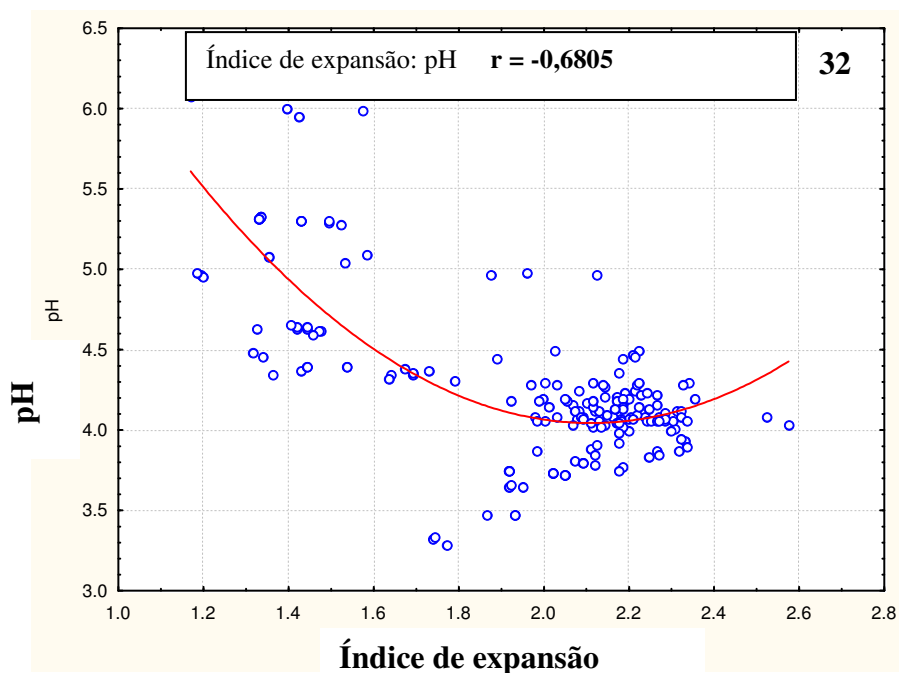


Figura 32 Relação entre o índice de expansão e o pH do total de amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos.

A análise sobre a relação do índice de expansão com o pH, restrita às féculas de mandioca e aos polvilhos azedos com boa expansão (Figura 33), revelou que o pH é uma importante variável para a predição do índice de expansão do polvilho azedo.

Os resultados encontrados da forte relação inversa entre o pH e a expansão, comprovam um fato amplamente divulgado em trabalhos com polvilho azedo afirmando que o produto apresenta baixo pH (DEMIATE, et al., 1999; DEMIATE et al., 2000; SILVEIRA et al., 2000; MARCON, 2004; TAKIZAWA et al., 2004; MARCON et al., 2007).

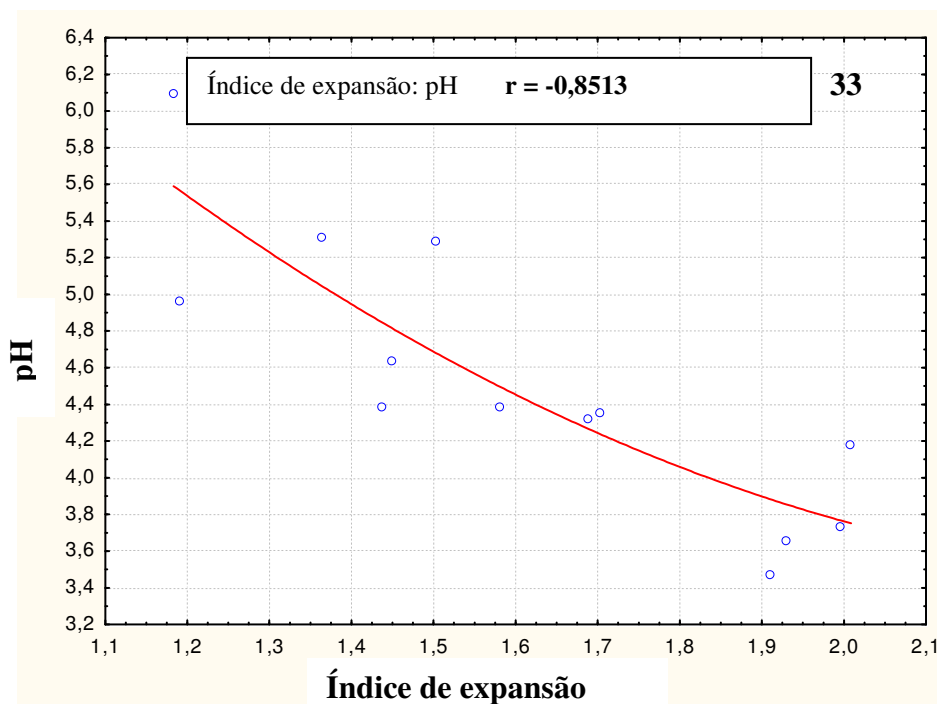


Figura 33 Relação entre o índice de expansão e o pH das amostras de féculas de mandioca (FM 1, FM 2, FM 3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAM, PAR 1, PAR 2 e PAR 3).

Embora o fator ácido seja uma variável pouco estudada nos meios acadêmicos, ela representa o volume em mL de ácido clorídrico 0,1 N para o pH do amido, atingir o valor 3,0. Indiretamente, este índice revela a natureza química do grânulo de amido, sobre a sensibilidade para a mudança de pH. No caso do polvilho azedo, o tipo de troca química, acidificação, por exemplo, que ocorre após a fermentação.

A Figura 34 revela que o coeficiente de correlação entre o índice de expansão e o fator ácido é baixo ($r = -0,0619$) para um espectro amostral de todas as féculas e polvilhos estudados. Os polvilhos laboratoriais analisados são amostras com baixo desempenho, e que não correspondem às expectativas dos panificadores.

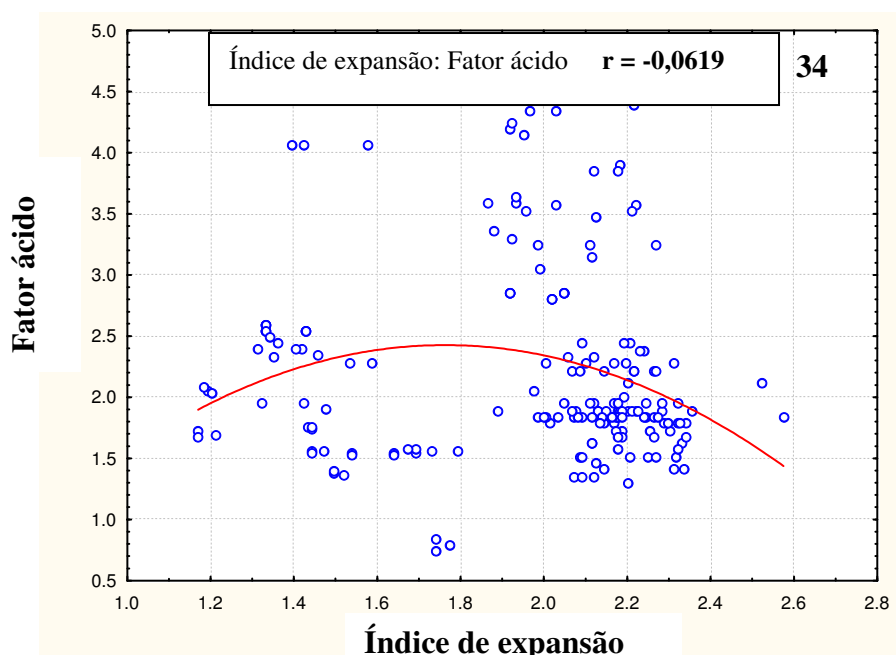


Figura 34 Relação entre o índice de expansão e o fator ácido do total de amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos.

Este panorama fica melhor quando se analisa o fator ácido apenas para os melhores polvilhos e as féculas, mostrando um coeficiente de correlação de aproximadamente 0,64 (Figura 35).

Diversos trabalhos têm sido publicados na tentativa de explicar as propriedades de expansão do polvilho azedo, mas nenhum foi encontrado sobre a relação entre a expansão e o fator ácido.

As análises de espectroscopia (ATR-FTIR) e quimiometria aplicadas nas amostras em estudo indicaram que em regiões de absorção típicas para compostos nitrogenados, revelaram algumas diferenças importantes entre o polvilho azedo e as amostras de fécula de mandioca. O fator ácido, sendo uma análise que leva em consideração a redução do pH da amostra frente à titulação com HCl 0,1N e, sendo o fator ácido mais elevado para os polvilhos azedos do que para as féculas, estes resultados, podem representar uma indicação de material nitrogenado exercendo um efeito tamponante para a redução do pH, predominante nos polvilhos azedos.

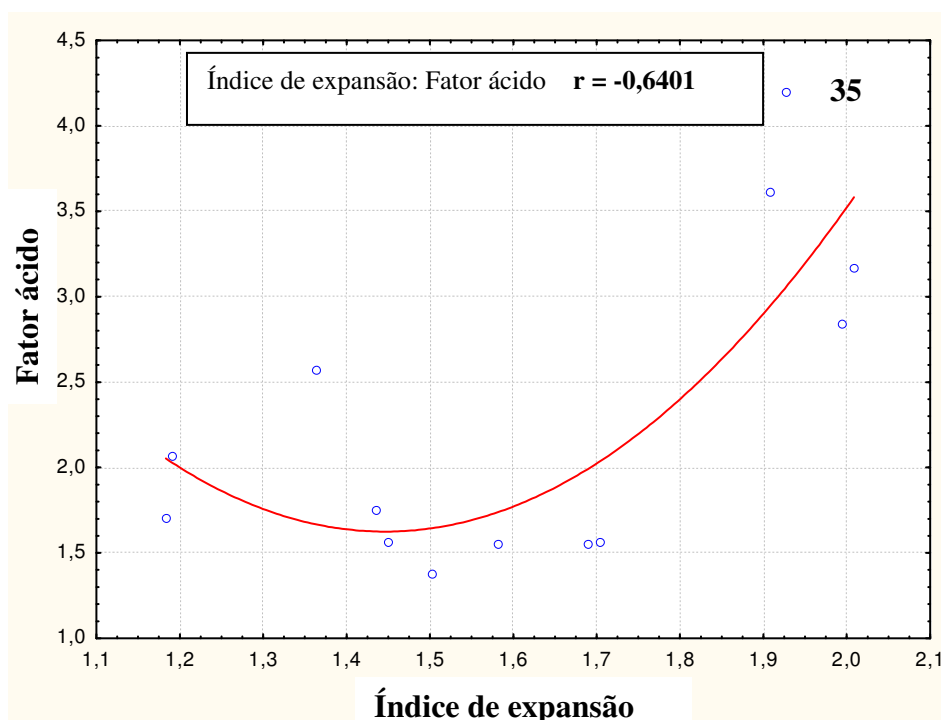


Figura 35 Relação entre o índice de expansão e o fator ácido das amostras de féculas de mandioca (FM 1, FM 2, FM 3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAM, PAR 1, PAR 2 e PAR 3).

Outra variável considerada foi o volume específico que representa a relação volume/massa dos corpos de prova constituídos pelos amidos em estudo. Esta variável está diretamente relacionada com o índice de expansão. Mesmo analisando todo o espectro amostral é possível encontrar um coeficiente de correlação elevado ($r = 0,8855$) entre o volume específico e o índice de expansão (Figura 36).

Esta correlação aumenta significativamente ($r = 0,9375$) quando a análise é realizada somente entre as amostras de féculas de mandioca e melhores polvilhos azedos (Figura 37).

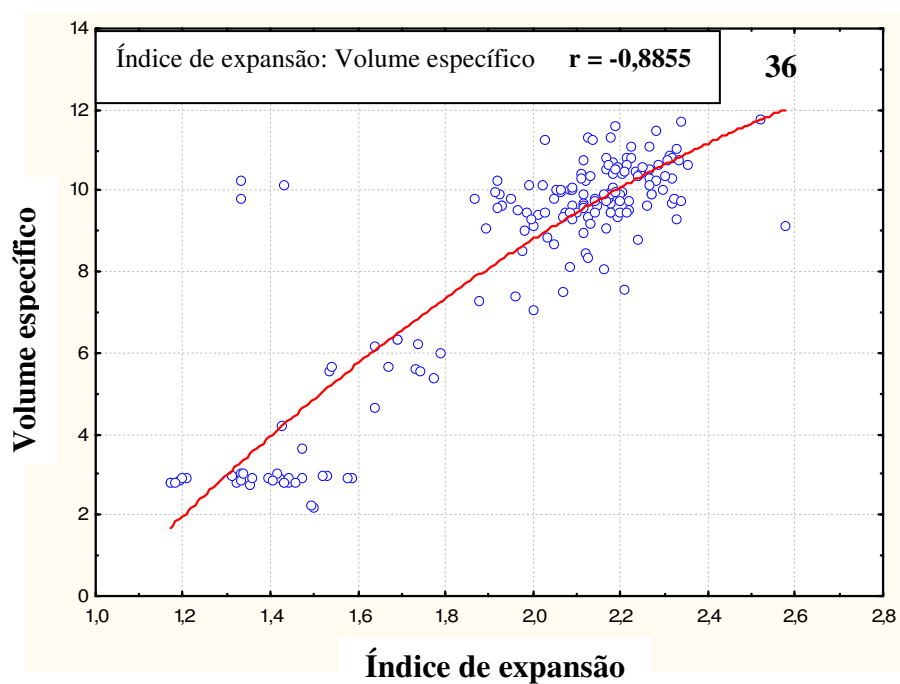


Figura 36 Relação entre índice de expansão e volume específico do total de amostras das féculas de mandioca e dos polvilhos azedos.

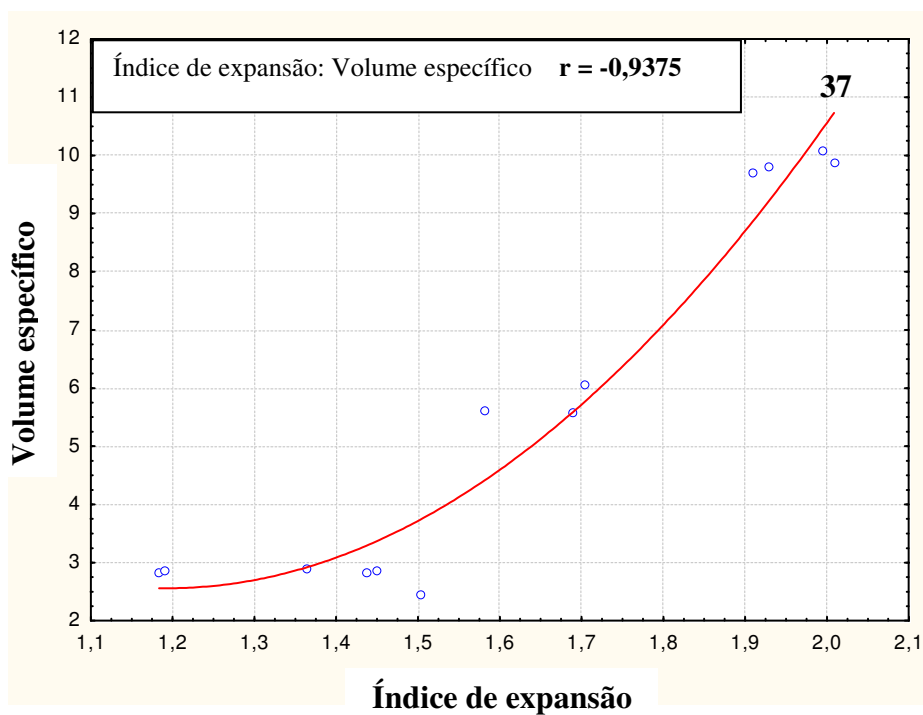


Figura 37 Relação entre índice de expansão e volume específico das amostras de féculas de mandioca (FM 1, FM 2, FM 3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAM, PAR 1, PAR 2 e PAR 3).

De acordo com diversos trabalhos publicados (BERTOLINI, MESTRES; COLONNA, 2000; BERTOLINI et al., 2001a; 2001b; 2001c; ZAMBRANO; CAMARGO; TAVARES, 2001; VATANASUCHART et al., 2005) e os resultados obtidos neste trabalho, a fermentação do amido de mandioca resulta em despolimerização do grânulo. A determinação da viscosidade intrínseca das amostras estudadas revela esta alteração, com redução parcial do grau de polimerização da amilose e da amilopectina constituintes dos grânulos de amido.

Existe uma alta correlação inversa ($r = -0,9233$) entre a viscosidade intrínseca e o índice de expansão para as amostras de fécula de mandioca e polvilho azedo (Figura 38).

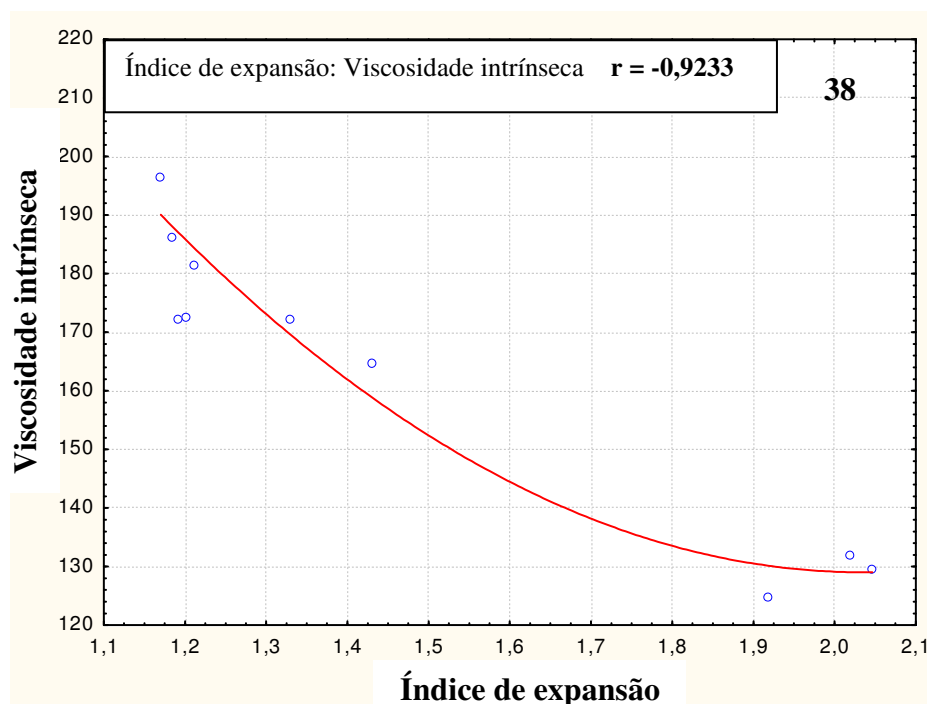


Figura 38 Relação entre o índice de expansão e a viscosidade intrínseca das amostras de féculas de mandioca (FM 1, FM 2, FM 3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAM, PAR 1, PAR 2 e PAR 3).

Como consequência desta despolimerização, alguns autores já publicaram que existem diferenças entre o teor de amilose dos amidos fermentados e nativos de mandioca (LEONEL; GARCIA; REIS, 2004; GUNARATNE; HOOVER, 2001). No entanto, no presente trabalho, foi encontrado que não existe uma relação direta entre o teor de amilose do grânulo de fécula de mandioca e de polvilho azedo, conforme pode ser observado pelos resultados apresentados na Tabela 14.

São encontradas na literatura análises de amilose em curvas padrão construídas com amiloses de outros amidos, que não de mandioca, o que pode resultar em expressivas diferenças (KASEMSUAWAN et al., 1998; BULÉON et al., 1998; SRIROTH et al., 1999; CHATAKANONDA et al., 2003; PERONI, 2003; FREITAS et al., 2004).

Neste trabalho, não foi encontrada uma importante relação entre teor de amilose dos grânulos de fécula de mandioca e polvilho azedo. A proximidade entre amiloses, amilopectinas/amiloses, amilopectinas/amilopectinas, as ligações entre as mesmas e a proporção dos polissacarídeos nos grânulos de amido, são suficientemente diversas para que a amilose possa ser considerada como parâmetro confiável para a previsão da propriedade de expansão do polvilho azedo.

Considerando-se as correlações apresentadas, em ordem crescente, poderiam servir como indicadores para a expansão do polvilho azedo: o poder de inchamento, o fator ácido, o pH, a viscosidade intrínseca e o volume específico. No entanto, as empresas polvilheiras e os panificadores, poderiam ficar na dependência dos laboratórios para as análises mais elaboradas, como o poder de inchamento e a viscosidade intrínseca. Por sua vez, hoje os profissionais que trabalham com polvilho azedo, já fazem, a seu modo, um corpo de prova, que pode representar a avaliação do volume específico.

Por esta realidade, no presente trabalho, sugere-se o fator ácido e o pH, como variáveis que poderiam simplificar a predição do comportamento do polvilho azedo.

A Figura 39 ilustra uma superfície de resposta que estabelece as relações entre o índice de expansão, o pH e o fator ácido para os amidos nativos e os polvilhos azedos comerciais.

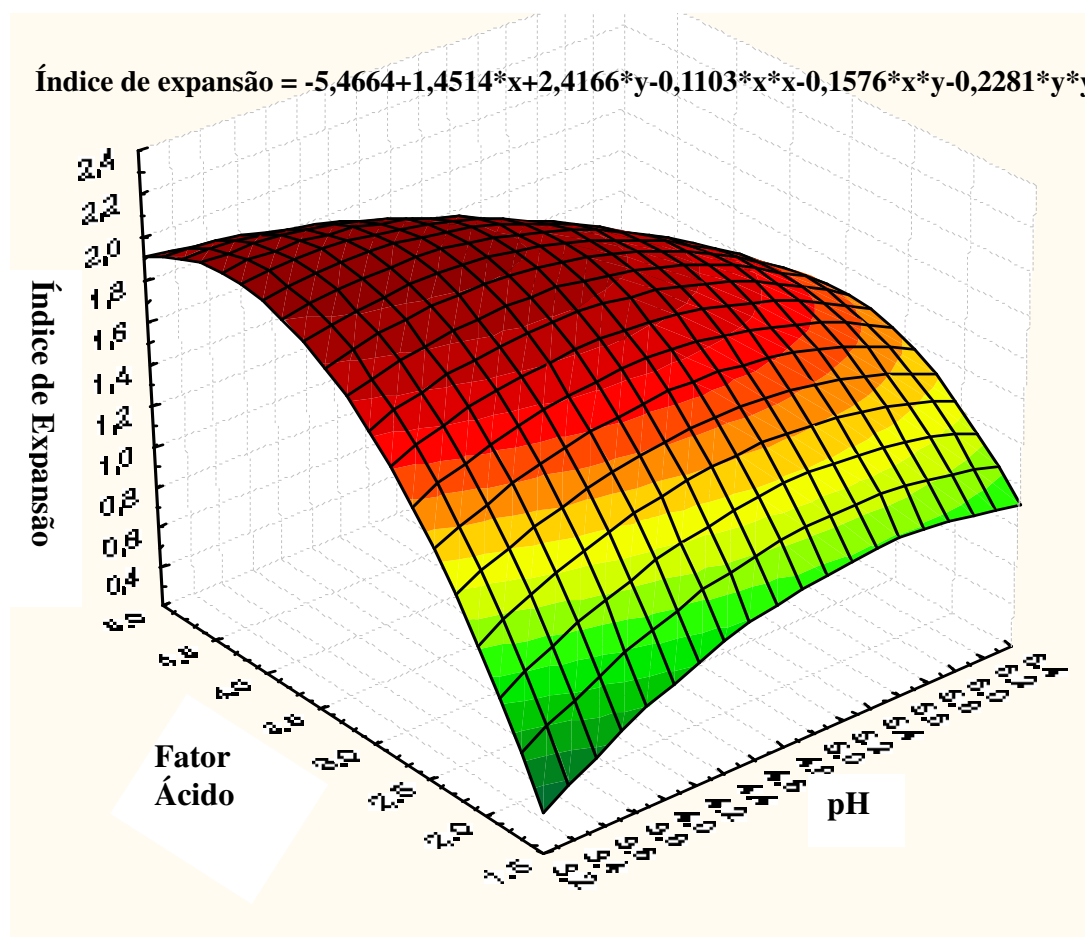


Figura 39 Superfície de resposta relacionando o índice de expansão, o fator ácido e o pH para das amostras de féculas de mandioca (FM 1, FM 2, FM 3, FMK e FMY) e polvilhos azedos (PAC 1, PAC 2, PAC 3, PAM, PAR 1, PAR 2 e PAR 3).

Analisando todos os resultados encontrados para as amostras deste trabalho pode ser observado que os melhores polvilhos apresentam pHs variando de 3,47 a 4,27 e o fator ácido de 2,83 a 4,36 e que os polvilhos fermentados em laboratório a partir de fécula de mandioca que apresentaram boa capacidade de expansão obtiveram pH

variando de 3,93 a 4,58 e fator ácido de 1,56 a 3,09. Estes valores mínimos e máximos, obtidos das diversas amostras avaliadas, podem servir como limites para a predição do comportamento do polvilho azedo.

A equação apresentada na Figura 39, para o índice de expansão em função do pH e do fator ácido, pode ser usada para prever o comportamento do polvilho azedo na panificação de acordo com os valores de pH e fator ácido das amostras.

Todas as amostras de polvilho azedo produzidas no laboratório apresentaram valor para o fator ácido inferior ao limite mínimo sugerido neste trabalho. Este tipo de produção é diferente do processo tradicional para produção de polvilho azedo, pois é um método mais rápido (MARCON, 2004). Para visualizar o desempenho de polvilho azedo produzido pelo método rápido, sugere-se a utilização do pH e volume específico como variáveis de predição para a expansão do polvilho azedo.

Adicionalmente, o peso dos espécimes de prova também pode ser relacionado com a expansão porque o peso do produto assado confeccionado com polvilho azedo de boa expansão é menor do que os com polvilho azedo de expansão baixa.

Considerando o método de determinação de volume específico usado neste trabalho de acordo com Cereda (1983) e Nunes e Cereda (1994), foi possível encontrar um conjunto de dados suficiente para estabelecer uma relação adequada entre o espécime de prova e o índice de expansão. O índice de expansão pode ser estimado através do cálculo da diferença de peso do espécime de prova antes e após assamento, obtendo o resultado em percentagem de perda de peso.

A Tabela 14 apresenta os dados para a perda de peso dos produtos em estudo, com o melhor desempenho. É possível visualizar que um polvilho azedo de bom desempenho deve apresentar uma perda de peso após o cozimento em torno de 40 a 45%.

Tabela 14 Relação entre o índice de expansão e a perda de peso de amostras de amido nativo, polvilho azedo fermentado em laboratório com baixa e alta performance e polvilho azedo comercial.

Amostras	Índice de expansão	Perda de peso (%)
Amido de mandioca nativo	1,3	34
	1,4	28
	1,3	30
	1,4	31
	1,5	30
	1,5	32
n =6		
Média ± desvio padrão	1,4±0,09	30,83±2,041
Polvilho azedo laboratório- BP*	1,4	29
	1,5	32
	1,4	31
	1,3	32
	1,4	32
	1,5	36
	1,5	30
	1,5	39
	1,4	34
n =9		
Média ±desvio padrão	1,43±0,07	32,78±3,11
Polvilho azedo laboratório- AP*	2,2	41
	2,1	40
	2,2	42
	2,1	40
	2,1	39
	2,1	40
	2,2	42
	2,2	41
	2,2	42
	2,2	41
	2,3	40
n =11		
Média ±desvio padrão	2,17±0,06	40,73±1,01
Polvilho azedo comercial	2,0	39
	2,0	41
	1,9	41
	1,9	38
	1,9	39
	1,9	38
	1,9	39
	2,1	37
	2,0	41
	1,9	40
	1,9	37
	2,1	39
	2,2	45
	2,2	40
	2,1	42
	2,1	40
	2,1	41
n =17		
Média ±desvio padrão	2,01 ±0,11	39,82 ±1,98

* BP – Baixa performance; AP – Alta performance.

Além das determinações do pH, do fator ácido também a perda de peso pode ser usada para caracterizar um bom polvilho azedo.

A avaliação de perda de peso é independente da determinação do pH ou fator ácido, mas é vantajosa em relação ao método tradicional para ser utilizado no produto final como é formulado na padaria, utilizando uma quantidade mínima de amostra, forno e balança.

A intenção deste trabalho é que este produto fermentado possa ser desenvolvido para estabelecer as menores variações entre as várias fermentações de um mesmo produtor e, para disponibilidade, pelos panificadores do maior número de marcas de fidelidade. Ao mesmo tempo, a indústria familiar de polvilho azedo precisa de metodologia simples para visualizar a qualidade dos seus produtos.

Estudos sobre o controle de qualidade do polvilho azedo e/ou com o objetivo de melhorar o processo e a qualidade do produto devem ser considerados, devido ao aumento de oportunidades para preservar as indústrias pequenas e familiares que se dedicam à produção de polvilho azedo.

5 CONCLUSÕES

A opinião geral dos padeiros é de que existe uma grande dificuldade para encontrar uma boa marca de polvilho azedo, este fato define uma relação de fidelidade entre estes profissionais e algumas marcas comerciais do produto.

Tanto as féculas de mandioca quanto os polvilhos azedos estudados apresentaram diferenças nas suas características estruturais e físico químicas. As análises dos resultados contribuíram para o estabelecimento de parâmetros de qualidade para o polvilho azedo.

Espectroscopia ATR-FTIR e quimiometria (PCA) mostraram ser ferramentas úteis para a caracterização e classificação dos amidos de mandioca em estudo, ajudando a prever o comportamento da massa contendo estas matérias primas.

As análises de DSC revelaram uma menor energia de gelatinização para o polvilho azedo seco ao sol, quando comparado com a fécula de mandioca e com o polvilho azedo seco em estufa, indicando a modificação química ocorrida no amido tanto no processo da fermentação, quanto durante a secagem.

As modificações estruturais ocorridas na fermentação do amido de mandioca são observadas no padrão de difração de raios X, que apresentam diferenças para as féculas de mandioca e os polvilhos estudados.

Um modelo do mecanismo foi estabelecido considerando a importância do volume específico, fator ácido, grau de polimerização, pH e número de grupos carbonilas, carboxilas e hidroxila na propriedade de expansão. Consequentemente, esses parâmetros podem servir como indicadores de qualidade de polvilho azedo na panificação.

A formulação do modelo matemático, para maximizar a expansão pode permitir o estabelecimento de um padrão de controle significativo que dependeria de

uma relação entre as expectativas dos padeiros e parâmetros físico químicos relacionados com o comportamento favorável de produtos com polvilho azedo.

Enquanto os pesquisadores têm utilizado análises, em geral, sofisticadas e/ou caras e técnicos treinados, a determinação do percentual de perda de peso, devido à facilidade de execução, reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados, poderia ser empregada para prever o comportamento do polvilho azedo em panificação.

Dentre as diversas variáveis de qualidade da matéria prima, viscosidade intrínseca, poder de inchamento, volume específico, pH e fator ácido, estes três últimos podem contribuir para previsão de um bom comportamento do polvilho azedo para produtos obtidos pelo processo tradicional de longo tempo de fermentação.

A produção de polvilho azedo na entressafra a partir de fécula de mandioca e utilizando o método de fermentação rápida (similar ao processo tradicional de produção de polvilho azedo), apresenta menor valor de fator ácido em comparação com o polvilho azedo produzido de forma tradicional. Em virtude disso, a inclusão do percentual de perda de peso durante o assamento seria uma boa variável para, juntamente com pH e fator ácido, fazer uma melhor previsão do comportamento do polvilho azedo em panificação.

O polvilho azedo é um produto diferenciado, fabricado por pequenos produtores que poderiam, através da determinação do percentual de perda de peso, conhecer a capacidade de expansão do produto, estabelecendo padrões de qualidade, que permitiriam a classificação indispensável para gerar um selo de garantia; aumentando, assim, o valor do produto, assegurando a permanência desta indústria em vias de extinção.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA, H. A.; VILLADA, H. S. ; TORRES, G. A. ; RAMÍREZ, J. G. Surface morphology of sour cassava and native potato thermoplastic starches by optical and atomic force microscopy. **Información Tecnológica**, v. 17, n.3, p. 63-70, 2006.
- ALCÂNTARA J.P. **Espectroscopia Molecular**, Curso Física Moderna II. Universidade Federal do Pará, Brasil, 2002.
- AMANTE, E.R. **Caracterização de amidos de variedades de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) e de Batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Minas Gerais, 1986.
- AMPE, F.; SIRVENT, A.; ZAKHIA, N. Dynamics of the microbial community responsible for traditional sour cassava starch fermentation studied by denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative rRNA hybridization. **International Journal of Food Microbiology**, v.65, p.45-54, 2001.
- APLEVICZ, K.S., DEMIATE, I.M. Characterization of native and modified cassava starches and their use in baked products. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.3, p.478-484, 2007.
- AOAC – **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16 th ed., Gaithersburg, 1999.
- AO, Z.; JANE, J. Characterization and modeling of the A- and B-granule starches of wheat, triticale, and barley. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 46 – 55, 2007.
- ASCHERI, D.P.R.; VILELA, E.R. Alterações do polvilho da mandioca pela fermentação, no fabrico de biscoitos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.2, p.269-279, 1995.
- ATICHOKUDOMCHAI, N.; VARAVINIT, S.; CHINACHOTI, P. A study of ordered structure in acid-modified tapioca starch by ¹³C CP/MAS solid-state NMR. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p.383-389, 2004.
- ATWELL, W.A.; HOOD, L.F.; LINEBACK, D.R; VARIANO-MARSTON, E.; ZOBEL, H. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. **Cereal Foods World**, v.33, n.3, p. 306-311, 1998.
- AVANCINI, S. R. P. **Caracterização físico-química, microbiológica e toxicológica das águas de fermentação do amido de mandioca na produção do polvilho azedo**. Tese de Doutorado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

BADRIE, N.; MELLOWES, W.A. Extrusion processing of cassava: formulation of snacks. In: **Cassava Flour and Starch: Progress in Research and Development**, v. 35, p. 304-312, 2002.

BALAGOPALAN, C. Cassava utilization in food, feed and industry. Chapter 15, p. 301-318. **Cassava: Biology, Production and Utilization**. CAB International. 2002.

BEMILLER, J.N. Starch modification: challenges and prospects. **Starch/Stärke**, v. 49, n. 4, p. 31-127, 1997.

BELEIA, A.; BUTARELO, S. S.; SILVA, R. S. F. Modeling of starch gelatinization during cooking of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **LWT- Food Science and Technology**, v. 39, p. 400 – 405, 2006.

BERTOLINI, A.C.; MESTRES, C., COLONNA, P. Rheological properties of acidified and UV irradiated starches. **Starch/Stärke**, v.52, p.340-344, 2000.

BERTOLINI, A. C.; MESTRES, C.; RAFFI, J.; BULÉON, A. LERNER, D. e COLONNA, P. Photodegradation of cassava and corn starches. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 675-682, 2001a.

BERTOLINI, A.C.; MESTRES, C., COLONNA, P. e RAFFI, J. Free radical formation in UV and gamma-irradiated cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v.44, p. 269-271, 2001b.

BERTOLINI, A.C.; MESTRES, C; LOURDIN, D.; VALLE, G. D.; COLONNA, P.: Relationship between thermomechanical properties and baking expansion or sour cassava starch (Polvilho azedo). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, p. 429-435, 2001c.

BHADESHIA, H.K.D.H. **Materials Science & Metallurgy – Differential Scanning Calorimetry**. University of Cambridge. 2002. Disponível no site: <http://www.msm.cam.ac.uk/phasetrans/2002/Thermal2.pdf>. Acesso em fevereiro de 2007.

BILIADERIS, D.R.; GRANT, R. e VOSE, J.R. Structural characterization of legume starches. II Studies on acid-treated starches. **Cereal Chemistry**, v.58, p. 502-507, 1981.

BILIADERIS, C.G. Structures and phase transitions of starch in food systems. **Food Technology**, v.145, p. 98-109, 1992.

BLANSHARD, J.M. SV. Starch granule and function: a physicochemical approach. In GALLIARD, T. **Starch: properties and potencial**, 2.ed., v..5, p.16-54. Chichester: Wiley, 1987.

BRABET, C; CHUZEL, G.; DUFOUR, D.; RAIMBAULT, M. GUIRAUD, J. Study of natural fermentation of cassava starch in Colombia. I: Characterization of the microflora and fermentation parameters. In: **International Meeting on Cassava Flour & Starch**, Cali. Proceedings Cali: CIAT, p.120, 1994.

BRASIL. Resolução nº 66, anexo 11. 14 de maio de 1971. **CONCEX** (Conselho Nacional do Comércio Exterior).

BRASIL. Leis, decretos, etc. Decreto nº 12.486. 20 de outubro de 1978. **Normas Técnicas Especiais relativas a Alimentos e Bebidas**. D.O. do Estado de São Paulo. 21 de outubro, p. 3-25, 1978.

BRASIL. Instrução Normativa nº. 23 de 14 de dezembro de 2005.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V. e BALL, S. Mini review: Starch granules: structure and biosynthesis, **International Journal of Biological Macromolecules**, v.23, p.85–112, 1998.

CÁRDENAS, O.S.; BUCKLE, T.S. Sour cassava starch production: a preliminary study. **Journal of Food Science**. v.45, p.1509-1512, 1980.

CARVALHO, E. P.; CANHOS, V.P.; VILELA, E.R. Determinação da microbiota do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, n.3, p.239-245, 1995.

CARVALHO, E.P.; CANHOS, V.P.; RIBEIRO, V.E., CARVALHO, H.P. Polvilho Azedo: Aspectos físicos, químicos e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.31, n.2, p.129-137, 1996.

CEREDA, M.P.; LIMA, U.A. Aspectos sobre a fermentação da fécula de mandioca. II- Controle das fermentações realizadas em laboratório. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.15, p.107-122, 1981.

CEREDA, M.P. Padronização para ensaio de qualidade da fécula de mandioca fermentada (polvilho azedo). I – Formulação e preparo de biscoitos. **Boletim Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, n.3, p.287- 296, 1983a.

CEREDA, M. P. Padronização para ensaios de qualidade da fécula de mandioca fermentada (polvilho azedo). II – Ensaio de absorção de água. **Boletim Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, n.3, p. 297- 304, 1983b.

CEREDA, M.P. Avaliação da qualidade de duas amostras de fécula fermentada de mandioca (polvilho azedo). **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17 n.3, p.305-20, 1983c.

CEREDA, M.P.; BONASSI, I.A. Avaliação da qualidade da fécula fermentada comercial de mandioca (polvilho azedo). III- Ácidos orgânicos e absorção de água. **Revista Brasileira de Mandioca**, v.III, n.2, p.21-30, 1985.

CEREDA, M.P.; CATANEO, A. Avaliação de parâmetros de qualidade da fécula fermentada de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, v.5, n.1, p.55-62. 1986.

CEREDA, M.P. Tecnologia e qualidade do polvilho azedo. **Informe Agropecuário**, v. 13, n. 145, p.63-68, 1987.

CEREDA, M.P.; GIAJ-LEVRA, L.A. Constatação de bactérias não simbióticas fixadoras de nitrogênio em fermentação natural de fécula de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, v.6, n.1, p.29-33. 1987.

CEREDA, M. P. Padronização para ensaios de qualidade da fécula de mandioca fermentada (polvilho azedo). Formulação e preparo de biscoitos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p. 287 – 295, 1993.

CEREDA, M.P.; NUNES, O.L.G.; VILPOUX, O. **Tecnologia da produção de polvilho azedo**, Botucatu, Centro de Raízes Tropicais (CERAT), Universidade Estadual Paulista, 1995.

CEREDA, M. P.; HENRIQUE, C. M.; OLIVEIRA, M. A.; FERRAZ, M. V.; VICENTINI, N. M. Characterization of edible films of cassava starch by electron microscopy. brazilian **Journal of Food Technology**, v.3, p.91-95, 2000.

CEREDA, M.P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo, Fundação Cargill, v. 1, 221 p., 2002.

CHAMBERLAIN, E. K.; RAO, M. A. Effect of concentration on rheological properties of acid-hydrolyzed amylopectin solutions. **Food Hydrocolloids**, v. 14, n. 2, p. 163-171, 2000.

CHARLES, A.L.; CHANG, Y.H.; KO, W.C.; SRIROTH, K.; HUANG, T.C. Influence of amylopectin structure and amylose content on the gelling properties of five cultivars of cassava starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2717 – 2725, 2005.

CHATAKANONDA, P.; CHINACHOTI, P.; SRIROTH, K.; PIYACHOMKWAN, K.; CHOTINEERANAT, S.; TANG, H.; HILLS, B. The influence of time and conditions of harvest on the functional behaviour of cassava starch-a proton NMR relaxation study. **Carbohydrate Polymers**, v.53, p. 233-240, 2003.

CHEETHAM, N. W. H.; TAO, L. Variation in crystalline type with amilose content in maize starch granules: a X-ray powder diffraction study. **Carbohydrate Polymers**, v. 36, n. 4, p. 277-284, 1998.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H. **Introducción a la bioquímica y Tecnología de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, v.1, 333p. 1999.

ČOPIKOVÁ, J.; BARROS, A. S.; ŠMIDOVÁ, I.; ČERNÁ, M.; TEIXEIRA, D.H.; DELGADILLO, I.; SYNITSIA, A.; COIMBRA, M. A. Influence of hydration of food additive polysaccharides on FTIR spectra distinction. **Carbohydrate Polymers**, v.63, p.355-359, 2006.

CRAIEVICH, A. F.; RODRIGUES, A. R. D.; SILVA, C. E. T. G. . Commissioning and operation of the first brazilian synchrotron light source. **Journal of Synchrotron Radiation**, v. 5, p. 1157-1161, 1998.

CONDE-PETIT, B.; NUSSLI, J.; HANDSCHIN, S.; ESCHER, F. Comparative characterization of aqueous starch dispersion by light microscopy, reometry and iodine binding behaviour. **Starch/Stärke**, v. 50, n. 5, p. 184-192, 1988.

DAIUTO, E.R. **Características de féculas de tuberosas e suas relações com resistências dos géis sob condições de estresse aplicada na industrialização de alimentos**. Tese de doutorado em Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 146f, 2005.

DEDAVID, B. A. ; GOMES, C. I. ; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura- Aplicações e preparação de amostras**. 1. ed. Porto Alegre: EDUPUCRS, v. 1, 60 p., 2007.

DENARDIN, C.C.; SILVA, L.P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas – Revisão Bibliográfica. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 39, n.3, p. 945-954, 2009.

DEMIATE, I.M., BARANA, A.C., CEREDA, M.P., WOSIACKI, G. Organic acid profile of commercial sour cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p.131-135, 1999.

DEMIATE, I.M.; CEREDA, M.P. Some physico-chemical characteristics of modified cassava starches presenting baking property. **Energia na Agricultura**, v. 15, n. 3, p. 36-46, 2000.

DEMIATE, I.M.; DUPUY, N.; HUVENNE, J.P.; CEREDA, M.P.; WOSIACKI, G. Relationship between banking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.149-158, 2000.

DIAS, J.J.C.T. **Espectroscopia molecular: Fundamentos, métodos e aplicações**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 162 p., 1986.

DOMALTOVA, L. RUCKEBUSCH, C., DUPUY, N., HUVENNE, J.P., LEGRAND, P. Identification of modified starches using infrared spectroscopy and artificial neural network processing. **Applied Spectroscopy**, v.52, n.3, p.329-338, 1998.

DUFOUR, D. et al. Improving the bread-making potential of cassava sour starch. In: DUFOUR, D.; O'BRIAN, G. M.; BEST, R. (Ed.) **Processing Meeting on Cassava Flour and Starch**. Progress in Research and Development, CIRAD/CIAD, Cali, p.133-142, 1996.

DUPUY, N., WOJCIECHOWSKI, C., TA, C.D., HUVENNE, J.P., LEGRAND, P. Mid-infrared spectroscopy and chemometrics in corn starch classification. **Journal of Molecular Structure**, v. 410-411, p. 551-554, 1997.

EDIJALA, J.K.; OKOH, P.N.; ANIGORO, R. Chemical assay of cyanide levels of short-time-fermented cassava products in the Abraka area of Delta State, Nigeria. **Food Chemistry**. v.64, n.1, p.107-110, 1999.

EL-DASH, A.A. Utilização da mandioca na alimentação humana e em outros produtos industrializados. **Informe Agropecuário**, v.13, n.145, p.74-82. 1987.

ELLIS, R.P.; COCHRANE, M. P.; DALE, M F.B.; DUFFUS, C.M.; LYNN, A.; MORRISON, I.M.; PRENTICE, R.D.M.; SWANSTON, J S.; TILLER, A. Starch Production and Industrial Use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, n.3, p.289-311, 1998.

ESCOUTO, L. F. S.; CEREDA, M. P. Ajustes de formulação para pães sem glúten de polvilho azedo. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 3, 1999, Campinas, **Anais....**, Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, n. 463, p. 133, 1999.

FAN, T.; MITCHELL, J.R.; BLANSHARD, J.M.V.A model for the oven rise of dough during baking, *Journal of Food Engineering*, v. 41, p. 69–77, 1999.

FRANCO, C. M. L.; CIACCO, C. F.; TAVARES, D. Q. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack. Part 2. Study of the granular structure of starch. **Starch/Stärke**, v. 40, n. 1, p. 29-32, 1988.

FENIMAN, C. M. **Caracterização de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do cultivar IAC 576-70 quanto à cocção, composição química e propriedades do amido em duas épocas de colheita**. Dissertação de mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2004.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**, 2 ed., Zaragoza : Acribia, 1258p., 2000.

FERREIRA, A. L. **Propriedades Vibracionais de Polissacarídeos Naturais**. Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Física. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FIEDOROWICZ, W.; TOMASIK, P.; LIM, S.T. Molecular distribution and pasting properties of UV irradiated corn starches. **Starch/Stärke**, v.51, p.126-131, 1999.

FORREST, B.; COVE, L. Identification and quantitation of hydroxypropylation of starch by FTIR. **Starch/Stärke**, v.44, n.5, p.179-183, 1992.

FOSTER, J.F. Physical Properties of Amylose and Amylopectin in Solution. In **Starch: Chemistry and Technology Fundamental Aspects**. Academic Press, New York, v.1, p.349-392, 1965.

FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.B.; LEONEL, M.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas: Propriedades Gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, v.1.224p. 2001.

FREITAS, R.A.; PAULA, R.C.; FEITOSA, J.P.A.; ROCHA, S.; SIERAKOWSKI, M.R. Amylose contents, rheological properties and gelatinization kinetics of yam (*Discorea alata*) and cassava (*Manihot utilissima*) starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p. 3-8, 2004.

FREUDENRICH, C. **How Light Microscopes Work**. Disponível no site: <http://science.howstuffworks.com/light-microscope6.htm>. Acesso em 13/02/09. Acesso em outubro de 2007.

FUKUSAKI, E.; KOBAYASHI, A. Plant Metabolomics: Potential for Practical Operation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.100, p.347-354, 2005.

FULCHER, R.G.; IRVING, D.W.; FRANCISCO, A. Fluorescence microscopy: applications in food analysis. In: MUCK, L. **Fluorescence Analysis in Foods**. New York, Longman Scientific and Technical, cap.9, p.59-106, 1989.

GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v.32, n.3-4, p.177-191, 1997.

GALLETI, S.R. Introdução a microscopia eletrônica. **Biológico**, v.65, n.1/2, p.33-35, 2003.

GARCIA, A.C.D.B.; LEONEL, M. Efeito da concentração de ácido láctico sobre a propriedade de expansão em amidos modificados fotoquimicamente. **Ciência Agrotécnica**, v. 29, n.3, p. 629-634, 2005.

GEBRE-MARIAN, T.; ADABA, A.; SCHMIDT, P.C., Some physicol-chemical properties of dioscorea starch from Ethiopia. **Starch/Stärke**, v.50, n.6, p.241-246, 1998.

GÉRARD, C.; BARRON, C.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V. Amylose determination in genetically modified starches. **Carbohydrate polymers**, v.44, n.1, p19-27, 2001.

GIRALD, E.; BRAUMAN, S.; KÉLÉKE, M.; GOSSELIN, L.; RAIMBAULD, M. A. Lactic acid bacterium with potential application in cassava fermentation. In: **Cassava Flour e Starch: Progress in Research and Development**, Chapter 23, p.197-209, 2002.

GOMES, A.M.M.; MENDES DA SILVA, C. E.; RICARDO, N.M.P.S. Effects of annealing on the physicochemical properties of fermented cassava starch (*polvilho azedo*) **Carbohydrate Polymers** , v.60, p. 1–6, 2005.

GOODFELOW, B.J.; WILSON, R.H. A Fourier transform IR study of the gelanization of amylose and amylopectin. **Biopolymers**, v. 30, p.1183-1189, 1990.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 425-437, 2002.

GYUOT, J.P.; MORLON-GUYOT, J. Effect of different cultivation conditions on *Lactobacillus manihotivorans* OND 32^T, an amylolytic lactobacillus isolated from sour starch cassava fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v.67, p.217-225, 2001.

GYUOT, J.P.; BRIZUELA, M.A.; SANOJA, R.R.; MORLON-GUYOT, J. Characterization and differentiation of *Lactobacillus manihotivorans* strains isolated from cassava sour starch. **International Journal of Food Microbiology**, v.87, p. 187-192, 2002.

HEALTH, M.C. Advances in imaging the cell biology of plant-microbe interaction. **Annual Review Phytopathology**, v.38, p.443-459, 2000.

HIZUKURI, S. Relationship between the distribution of the chain lenght of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. **Carbohydrate Research**, v.141, p. 295-306, 1985.

HODGE, J.E.; OSMAN, E.M. Carboyhdrates. In: **Principles of food science**. Part I. New York: Marcel Dekker, 1976.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2001.

HOSENEY, R.C. **Principles of Cereal Science and Technology**, AACC Inc, St.Paul, Minesota, USA, 327 p., 1986.

HUANG, Z.Q.; LU, J.P.; LI, X.H.; TONG, Z.F. Effect of mechanical activation on physico-chemical properties and structure of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p.128-135, 2007.

ISLAM, M. N.; MOHD, A.M.D.; NOOR M.A.B.M. Effect of temperature and starch concentration on the intrinsic viscosity and critical concentration of sago starch (*Metroxylon sagu*). **Starch/Stärke**, v. 53, n. 2, p. 90-94, 2001.

JACOBS, H.; DELCOUR, J.A. Hydrothermal Modifications of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n.8, p.2895-295, 1998.

JAILLAIS, B.; PINTO, R.; BARROS, A.S.; RUTLEDGE, D.N. Outer product analysis (OPA) using PLS regression to study the retrogradation of starch, **Vibrational Spectroscopy**, v.39, n.1, p.50-58, 2005.

JANE, J.S. Starch Properties, Modifications and Applications. **Pure Applied Chemistry**. v.32, n.4, p.751-757. 1995.

JANE, J.; CHEN, Y.Y.; LEE, L.F.; MCPHERSON, A.E.; WONG, K.S.; RADOSASAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.76, n.5, p.629-637, 1999.

JANOUSKOVÁ, J; BUDINSKÁ, M; PLOCKOVÁ, J; CHMELÍK, J. Optimization of experimental conditions for the separation of small and large granules by gravitational field-flow fractionation. **Journal of Chromatography A**, v.914, p.183-187, 2001.

JEFFREY, G. H.; BASSET, J.; MEDHAM, J.; DENNEY, R.C., **Vogel :Análise Química Quantitativa**, 5ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1992 .

JIPING, P.; SHUJUN, W.; JINGLIN, Y; HONGYAN, L.; JIUGAO, Y.; WENYUAN, G. Comparative studies on morphological and crystalline properties of B-type and C-type starches by acid hydrolysis. **Food Chemistry**, v.105, p.989-995, 2007.

JOHN, J.K.; RAJA, K.C.M. Properties of cassava starch-dicarboxylic acid complexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 39, p. 181-186, 1999.

JOLLIFE, I.T. **Principal Component Analysis**. Springer Verlag: New York, 2th Ed., 502p., 2002.

KARAM, L.B. **Propriedades funcionais de multi-misturas de amidos de milho, mandioca e cará e sua relação com as características físicas e moleculares**.

Tese de doutorado em Ciência de Alimentos. Universidade Estadual de Londrina, 133f., 2003.

KASEMSUAWAM, T.; JANE, J.; SCHNABLE, P.; STINARD, P.; ROBERTSON, D. Characterization of the dominant mutant amylose-extender (Ael – 5180) maize starch. **Cereal Chemistry**, v.72, n.5, p.457-464, 1995.

KALÁB, M.; ALLAN-WOJTAS, P.; MILLER, S.S. Microscopy and other imaging techniques in food structure analysis. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, p.177-186, 1995.

KIMARYO, V.M.; MASSAWE, G.A.; OLASUPO, N.A.; HOLZAPFEL, V.H. The use of a starter in the fermentation of cassava for the production of “kivunde”, a traditional Tanzanian food product. **International Journal of Food Microbiology**, v.56, p.179-190. 2000.

KITAHARA, K.; COPELAND, L. A simple method for fractionating debranched starch using a solid reversed-phase cartridge. **Journal Cereal Science**, v.39, p.91-98, 2004.

KRIEGER, K.M.; DUVICK, S.A.; POLLAK, L.M.; WHITE, P.J. Thermal properties of corn starch extracted with different bleeding methods: microblender and homogeneizer. **Cereal Chemistry**, v.74, n.5, p.553-555, 1997.

LACERDA, L.G. **Uso de técnicas termoanalíticas na caracterização da hidrólise enzimática parcial de amidos de matérias-primas tropicais**. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Ponta Grossa, 80f, 2006.

LAM, C. P.; LI, H.; XU, D. A model-centric approach for the management of model evolution in chemical process modeling. **Computer & Chemical Engineering**, v. 31, p. 1633 – 1662, 2007.

LA TORRE, M. C. R. Análisis Cuantitativo de bacterias marinas a partir de imágenes digitales con microscopia de epifluorescencia: Limitaciones del método. **Tese para obtenção do título de Oceanólogo**. Universidad Autonoma de Baja California. Disponível em : http://micmar.cicese.mx/pub_poster_tesis/Tesis%20pdf/Tesis%20Licenciatura.pdf. Acesso em janeiro de 2009.

LEACH, H.W.; McCOWEN, L.D.; SCHOCH, T.J. Structure of starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v.36, n.6, p.534-544, 1959.

LEACH, H.W.: Determination of intrinsic viscosity of starches. **Cereal Chemistry**, v. 40, p. 593 – 600, 1963.

LEACH, H. W.; SCHOCH, T. J. Structure of starch granule. II. Action of various amylases on starches. **Cereal Chemistry**, v. 38, p. 318–327, 1963.

LEONEL, M.; CEREDA, M.P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 65-69, 2002.

LEONEL, M.; GARCIA A. C.D. B.; REIS, M.M. Caracterização físico-química e microscópica de amidos de batata-doce, biri, mandioca e taioba e propriedades de expansão após modificação fotoquímica **Brazilian Journal Food Technology**, v.7, n.2, p.129-137, 2004.

LEONEL, M.; JACKEY, S.; CEREDA, M.P. Processamento industrial de fécula de mandioca e batata doce – um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 343-345, 1998.

LI, J-Y.; YEH, A- I. Relationship between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. **Journal of Food Engineering**, v.50, p.141-148, 2001.

LIMA, J.W.C. **Análise ambiental do processo produtivo de polvilho em indústrias do Extremo Sul de Santa Catarina**. Dissertação como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, 2000.

LIN, Y.P.; ABOUBACAR A.; ZEHR, B.E.; HAMAKER, B.R. Corn dry-milled grit and flour fractions exhibit differences in amylopectin fine structure and gel texture. **Cereal Chemistry**, v.79, n.3, p. 354-358, 2002.

LINDEBOOM, N., CHANG, P.R.; TYLER, R.T. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. **Starch/Stärke**, v.56, p.89-99, 2004.

LITCHMAN, J.W.; CONCHELLOJA, J.A. Fluorescent microscopy – review. **Nature Methods**, v.2, n.2, p. 910-919, 2005.

LIU, Q.; THOMPSON, D.B. Retrogradation of du wx and su 2 maize starch after different gelatinization heat treatments. **Cereal Chemistry**, v.75, n.6, p.868-874, 1998.

MADHUSUDHAN, L.R.; GOWDA, L.R.; THARANATHAN, R.N. Studies on sweet potatoes – III. Distribution of unit chains of branched and inbranched molecules of starch. **Food Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 201-204, 1996.

MAEDA, K. C.; CEREDA, M. P. Avaliação de duas metodologias de expansão ao forno do polvilho azedo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 139-143, 2001.

MAGALHAES, A. C. PEREIRA, S. M. V.. XIMENES, R. **Difração de raios X e elétrons**. Instituto de Física, Universidade de São Paulo, 2007. Disponível no site: <http://stoa.usp.br/ximenes/files/-1/5060/raiox.pdf>. Acesso em novembro de 2008.

MALISKA, A.M. **Microscopia eletrônica de varredura**. Disponível no site: http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV_index.htm. Acesso em fevereiro de 2009.

MALINOWSKI, R. E. **Factor Analysis in Chemistry**. 2nd Ed., Wiley: New York, 1991.

MARCON, M.J.A. **Efeito do processo fermentativo pelo método tradicional e com adição de glicose, sobre a qualidade do polvilho azedo**. Dissertação como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 149f., 2004.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, K.; DE SIMAS, K. N.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, p. 362 – 372, 2006.

MARCON, M. J. A.; AVANCINI, S. R. P.; AMANTE, E. R. **Propriedades Químicas e Tecnológicas do Amido de Mandioca e do Polvilho Azedo**. Editora da UFSC, 101 p., 2007a.

MARCON, M. J. A.; VIEIRA, G. C. N.; DE SIMAS, K. N.; SANTOS, K.; VIEIRA, M. A.; AMBONI, R. D. M. C.; AMANTE, E. R. Effect of the improved fermentation on physicochemical properties and sensorial acceptability of sour cassava starch. **Brazilian Archives of Biology and Biotechnology**, v. 50, n. 6, p. 1079 – 1087, 2007b.

MATSUGUMA, L. S.; LACERDA, L. G.; SCHNITZLER, E.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; FRANCO, C.M. L.; DEMIATE, I. M. Characterization of native and oxidized starches of two varieties of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*, B.) from two production areas of Paraná state, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n.3, 2009.

McCREADY, R.M.; HASSID, W.F. The separation and quantitative estimation of amilose and amylopectin in potato starch. **Journal of the American Chemical Society**, v.65, p. 1154, 1943.

MEDEIROS, M.A. **Difração de Raio X**. 2004. Disponível no site: <http://www.quiprocurea.net/raiox.htm>. Acesso em junho de 2004.

MESTRES, C. **Los estados fisicos del almidón**. In: Conferencia Internacional de Almidón .Quito. Anais...,1996.

MESTRES, C.; ROUAU, X. Influence of natural fermentation and drying conditions on the physicochemical characteristics of cassava starch. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 74, p.147-155, 1997.

MESTRES, C.; ZAKHIA, N.; DUFOUR, D. Functional and physico – chemical properties of sour cassava starch. **Starch Structure and Functionality**. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, p. 42-50, 1997.

MESTRES, C.; BOUNGOU, O.; AKISSOE, N.; ZAKHIA, N. Comparison of the expansion ability of fermented maize flour and cassava starch during baking. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 665 – 672, 2000.

MENDES DA SILVA, C.E.; FAÇANHA, S.H.F.; GOMES DA SILVA, M.G. Efeito do teor de água, amilose, amilopectina e grau de gelatinização no crescimento do biscoito de amido de mandioca obtido por fermentação natural. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v.18, n.1, p.60-62. 1998.

MINIM, V. P. R.; MACHADO, P.T.; CANAVESI, E.; PIROZI, M.R. Perfil sensorial e aceitabilidade de diferentes formulações de pão de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2000.

MOORE, G.R.P. **Amido de milho e mandioca na produção de maltodextrinas**. Dissertação como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

MOORTHY, S.N.; MATHEW, G. Cassava fermentation and associated changes in physicochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.38, n.2, p. 73-121, 1998.

MOREIRA, J.C.; SILVA, I.F.; WANG, S.H. Determinação das constantes K e α da Equação de Mark-Houwink de poli(p-acetóxiestireno). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, n.2, p. 80-82, 2004.

MROZEK, M. F.; WEAVER, M. J. Detection and identification of aqueous saccharides by using surface-enhanced raman spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 74, p. 4069-4075, 2002.

MUA, J.P.; JACKSON, D.S. Retrogradation and gel textural attributes of corn starch amylose and amylopectin fractions. **Journal of Cereal Science**, v. 27, n.2, p. 157-166, 1998.

MUNCK, L. Practical experiences in development of fluorescence analyses in na applied food research laboratory. In: MUCK, L. FRANCISCO, A. **Fluorescence Analysis in Foods**. 1ª.ed. New York: Longman Scientific and Technical, p.1-29, 1989.

NAKAMURA, I. M.; MORAES, I.O.; MARTUCCI, E.T. Considerações sobre tecnologia da fécula de mandioca fermentada: produção, propriedades físico-químicas e aplicações. **Científica**, v.4, p.196-202, 1976.

NAVARRO, A.S.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Modelling of reological behaviour in starch-lipid systems. **LWT- Food Science and Technology**, v. 29, n. 7, p. 632 – 639, 1996.

NILSSON, G.S.; RICHARDSON, S.; HUBER, A.; TORTO, N.; LAURELL, T.; TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, XI. Review - Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.

NUNES, O.L.G.S.; CEREDA M. P. Metodologia para avaliação da qualidade de fécula fermentada de mandioca (polvilho azedo). In: **Congresso Brasileiro de Mandioca**, Salvador, 1994.

NUNES, O. L. G. S. **Efeito da radiação ultravioleta sobre as propriedades funcionais da fécula de mandioca tratada com ácido láctico**. Dissertação Mestrado em Agronomia - Energia na Agricultura – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 88p., 1994.

NUNES, O. L. G. S. **Avaliação de parâmetros relacionados à expansão de fécula de mandioca ácido-modificada e irradiada com ultravioleta**. Tese de Doutorado em Agronomia - Energia na Agricultura, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 87 f., 1999.

OLIVEIRA, L.F. C. **Espectroscopia Molecular**. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, n.4, 2001.

PAES, S. S., YAKIMETS I., MITCHELL J. R. Influence of gelatinization process on functional properties of cassava starch films. **Food Hydrocolloids**, v.22, p.788-797, 2007.

PADMAJA, G.; BALAGOPALAN, C.; MOORTHY, S.N.; POTTY, V.P. Yuca rava and yuca porridge: the functional properties of two novel cassava food products. In : **Cassava Flour and Starch: Progress in Research and Development**, Chapter 37, p.323-330, 2002.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T.; VANDENBERGHE, L.P.S.; MOHAN, R. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresource Technology**, v.74, n.1, p. 81-87, 2000.

PARADA, Z.M.G.; SIRA, E.E.P. Evaluacion fisicoquímica y funcional de almidones de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) pregelatinizados y calentados com microondas. **Acta Científica Venezolana**, v. 54, p. 127-137, 2003.

PARKKONEN, T.; HEINONEN, R.; AUTIO, K. A new method for determining the area of cell walls in rye doughs based on fluorescent microscopy and computer-assisted image analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v.30, p. 743–747, 1997.

PEREIRA, J. CIACCO; C.F.; VILELA, E.R.; TEXEIRA, L.S. Féculas fermentadas na fabricação de biscoitos: estudo de fontes alternativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.287-293. 1999.

PERONI, F.H.G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de alimentos. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 118f, 2003.

PERONI, F.H.G., ROCHA, T.S. e FRANCO, C.M.L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology International**, v.12, n.6, p. 505–513, 2006.

PETERSON, D. M.; WORD, D. F. Composition and Structure of High-Oil Oat. **Journal of Cereal Science**, v.26, p. 121–128, 1997.

PINTO, M.R. **Propriedades Químicas**, cap.6, 2008.

PINTO, M.R. **Viscosidade de soluções diluídas de polímeros**, disponível no site: <http://pcserver.igmm.unicamp.br/~mgo/cursos/qf732/viscosidadepolimericas.pdf>. Acesso em 12 de dezembro de 2008.

PLATA-OVIEDO, M.; CAMARGO, C. R. O. Determinação de propriedades físico-químicas e funcionais de duas féculas fermentadas de mandioca (polvilho azedo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 59-65, 1995.

PLATA-OVIEDO, M.; CAMARGO, C. R. O. Effect of acid treatments and drying processes on physico-chemical and functional properties of cassava starch. **Journal Science Food Agricultural**, v.77, p.103-108, 1998.

RATNAYAKE, W.S.; JACKSON, D.S. A new insight into the gelatinization process of native starches. **Carbohydrate Polymers**, v.67, p.511-529, 2007.

RAUPP, D.S.; MOREIRA, S.S.; BANZATTO, D.A.; SGARBIERI, V.C. Composição e propriedades fisiológico-nutritivas de uma farinha rica em fibras insolúvel obtida do resíduo fibroso de fecularia de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.205-210, Campinas. 1999.

REIS, M.M.; FERREIRA, M.M.C.; SARMENTO, S.B.S. A multi-way analysis of starch cassava properties. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 64, p.123– 135, 2002.

- RIBEIRO, E. S.L; FRANCISCO, M. S. P.; GUSHIKEN, Y.; GONÇALVES, J. E. **Princípios Básicos de XAS e XPS**, Universidade Estadual de Campinas, 2003. Disponível no site: <http://chemkeys.com/br/wp-content/themes/chemkeysbr/articleI.php?u=cHJpbmNpcGlvcy1iYXNpY28tZGUteGFzLWUteHBz>. Acesso em fevereiro de 2007.
- ROCHA, T. S.; DEMIATE, I. M.; FRANCO, C. M. L. Características estruturais e físico químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.3, p. 620-628. 2008.
- RODIS, P.; WHEN, L.-F.; WASSWEMN, B.P. Assessment of extrusion-induced starch fragmentation by gel-permeation chromatography and methylation analysis. **Cereal Chemistry**, v.70, n.2, p.152-157, 1993.
- SANDOVAL, A.A.; SANDOVAL, E.R.; QUINTERO, A.F. Aplicación del análisis por calorimetria diferencial de barrido (DSC) para la caracterización de las modificaciones del almidón. **Dyna**, n.146, p. 45-52, 2005.
- SANNI, A.I.; MORLON-GUYOT, J.; GUYOT, J.P. New efficient amylose-producing strains of *Lactobacillus plantarum* e *lactobacillus fermentarum* isolated from different Nigerian traditional fermented foods. **Internatinal Journal of Food Microbiology**, v. 72, p. 53-62, 2002.
- SANTOS, C.A dos. **Conceitos elementares de raios X**. 2002. Texto revisado em 02 abr. 2002. Disponível em: <http://www.if.ufrgs.br/tex/fis142/raiosx/rxconc.html>. Acesso em: 26 jul. 2007.
- SARAVIA, D. C., HAMAGUCHI, H. E ONO, L. K., **Reprodução do experimento de raio-X: Difração, Emissão, Fluorescência e Absorção**. USP – Instituto de Física– Física Experimental V. Disponível no site : <http://www.geocities.com/cenacap/RaioX.html>. Acesso em março de 2007.
- SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of starch from waxy and nonwaxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v.77, n.1, p.58-63, 2000.
- SCHOCH, T.J.; LEACH, H.W. Determination of absolute density-liquid displacement. In: Whistler, R.L. ed. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 4, p.101-103, 1964.
- SEGURA, M. E. M. SIRA, E. E. P. Characterization of native and modified cassava starches by scanning electron microscopy and X-ray diffraction techniques. **Cereal Foods World** , v. 48; n. 2, p.78-81, 2003.
- SEVENOU, O.; HILL, S.E.; FARHAT, I.A.; MITCHELL J.R. Organization of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, p.79-85, 2002.

SHARIFFA, Y.N.; KARIM, A.A.; FAZILAH, A.; ZAIDUL, I.S.M. Enzymatic hydrolysis of granular native and mildly heat-treated tapioca and sweet potato starches at sub-gelatinization temperature. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 434-440, 2009.

SHEN, H.; WANG, M.; NTAGENYERA, C.; MANIRAKIZA, C. **Applying cassava sour food starch in bread making**, Zhongguo Liangyou Xuebao, v. 3, n.6, p.19-20, 1998.

SILVA, G.O.; TAKIZAWA F. F.; PEDROSO R. A.; FRANCO C. M. L.; LEONEL M.; SARMENTO, S. B.S.; DEMIATE I. M. Características físico químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.188-197, 2006.

SILVA, R.M.; FERREIRA, G.F.; SHIRAI, M.A.; HAAS, A.; SCHERER, M.L.; FRANCO, C.M.L.; DEMIATE, I.M. Características físico químicas de amidos modificados com permanganato de potássio/ ácido láctico e hipoclorito de sódio/ ácido láctico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.66-77, 2008.

SILVEIRA, I.A.; CARVALHO,E.P.;SCHWAN, R.I.; PILON,L. Aspectos gerais e microbiológicos da fermentação de fécula de mandioca para a produção de polvilho azedo. **Higiene Alimentar**. v.14, n.68/69, p.26-31. 2000.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N.S.; GILL, B.S. Morphological, thermal and reological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219-231, 2003.

SOARES, R.M.D. Caracterização parcial de amido em cultivares brasileiros de cevada (*Hordeum vulgare L.*). Tese de mestrado em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

SOUZA, P.S. E WEIDLICH, M.C. **Processamento dos dados de difração de raio X para medição de Tensões**, Instituto Politécnico – IPRJ/UERJ, Rio de Janeiro, Brasil, 2002. Disponível em: http://www.sbmec.org.br/bol/boletim_2002/assis-monim-souza-weidlich-4emc.pdf. Acesso em outubro de 2007.

SRIROTH, K.; SANTISOPASRI, V.; PETCHALANUWAT, C.; KUROTJANAWONG, K.; PIYACHOMKWAN, K.; OATES, C.G. Cassava starch granule structure-function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. . **Carbohydrate Polymers**, v.38, p. 161-170, 1999.

STEINKRAUS, K.H. **Handbook of indigenous fermented foods**. New York: Marcel Dekker, 1995. 776p.

TAKIZAWA, F. F. ; SILVA, G. O. ; DEMIATE, I. M. ; KONKEL, F. E. ; PEDROSO, R. A. . **Análise espectroscópica de amidos tropicais modificados por tratamento oxidativo - FTIR** . In: Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia

de Alimentos. Porto Alegre : Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002.

TAKIZAWA, F. F., SILVA, G.O., KONKEL, F. E. e DEMIATE, I. M.
Characterization of tropical starches modified with potassium permanganate and lactic acid. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n. 6, p. 921-931, 2004.

TESTER, R.F.; DEBBOM, S.J.J. Annealing of starch: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.27, p.1-12, 2000.

TESTER, R.F. Starch: The polysaccharide fractions. In: FRAZIER, P.J.; RICHMOND P.; DONALD, A.M. **Starch: Structure and Functionality**. London, Royal Society of Chemistry, p.163-171, 1997.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.151-165, 2004.

TETCHI, F.A., ROLLAND-SABATÉ, A., AMANI, G.N.G. e COLONNA, P.
Molecular and physicochemical characterization of starches from yam, cocoyam, cassava, sweet potato and ginger produced in Ivory Coast. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.1906-1916, 2007.

THEODOROU, D. N. Hierarchical modeling of polymeric materials. **Chemical Engineering Science**, v. 62, p. 5697 – 5714, 2007.

THOMAS, D.J.; ATWELL, W. **Practical for guides the food industry-starch**. St. Paul: Eagan Press, 94p. 1999.

TURI, E. A. **Thermal Characterization of Polymeric Materials** . Academic Press, II ed., v.1, Califórnia, USA. 1997.

VAN SOEST, J.J.G.; TOURNOIS, H.; WIT, de D. VLIEGENHART, J.F.G. Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v.279, p.201-214, 1995.

VATANASUCHART, N., NAIVIKUL, O., CHAROENREIN, S., SRIROTH, K.
Effects of different UV irradiations on properties of cassava starch and biscuit expansion. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v.37, p. 334-344, 2003.

VATANASUCHART, N., NAIVIKUL, O., CHAROENREIN, S., SRIROTH, K.
Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion. **Carbohydrate Polymers** , v. 61, p. 80-87, 2005.

VILELA, E.R.; FERREIRA, M.G. Tecnologia de produção e industrialização do amido de mandioca. . **Informe Agropecuário**, v.13, n.145, p.69-73, 1987.

VIEIRA, F.C. **Efeito do tratamento com o calor e baixa umidade sobre as características físicas e funcionais dos amidos de mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*), de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e de gengibre (*Zingiber officinale*)**. Dissertação de Mestrado em Ciências, ESALQ, 2004.

VIEIRA, M.V. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina – 2008-2009**, pg 103 a 111. Disponível no site http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/sintese_2009/sintese_2009.pdf

YUAN, R.C.; THOMPSON, D.B. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behaviour of maize starches from three waxy-containing genotypes in to inbroadlines. **Cereal Chemistry**, v.75, n.4, p.81-89, 1993.

YU, L.; CHRISTIE, G. Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v.46, p.176-184. 2001.

WANG, Y.J.; WHITE, P., POLLAK, L. Physicochemical properties of starches from mutant genotypes of the Inbred line. **Cereal Chemistry**, v.70, n.2, p.199-203, 1993.

WANG, W. J.; POWELL, A. D.; OATES, C. G. Pattern of enzyme hydrolysis in raw sago starch: effects of processing history. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, n. 1, p. 91-97, 1995.

WANISKA, R.D.; GOMEZ, M.H. Dispersion behavior of starch. **Food Technology**, v.46, n.6, p.110-123, 1992.

WENDHAUSEN, P.A.P.; RODRIGUES, G.V.; MARCHETTO, O. **Apostila de Análises Térmicas – Caracterização de Materiais III**- Universidade Federal de Santa Catarina- Disponível no site <http://www.materiais.ufsc.br/Disciplinas/EMC5733/Apostila.pdf> . Acesso em fevereiro de 2007.

WESTBY, A. Cassava Utilization, Storage and Small-scale Processing. In: **Cassava: Biology, Production and Utilization**, Chapter 14, CAB International, 2002.

WESTBY, A.; CEREDA, M.P. Production of fermented cassava starch (*polvilho azedo*) in Brazil. **Tropical Science**, v.34, n.2, p.203-210. 1994.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J.N. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**. Saint Paul, AACC, p.117-151. 1997.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; PASCHALL, E. F. **Starch Chemistry and Technology**. San Diego, Academic Press, 1984.

WHISTLER, R.L.; DANIEL, J.R. Carboidratos, In: FENNEMA O.R. **Química de los alimentos**. Zaragoza, Acribia, p-81-156, 1993.

WHISTLER, R.L.; PASCHALL, E.F. **Starch: Chemistry and Technology. Fundamental Aspects.** Vol. 1 Academic Press, N. Y. and London, 1965.

WILLIAMS, P. C.; KUZINA, D. F.; HLINKA, I. A . Rapid colorimetric procedure for estimating the amylose content of starches and flours. **Cereal Chemistry**, v. 7, n. 197, p. 412 – 420, 1970.

ZAMBRANO, F.; CAMARGO, C. R. O.; TAVARES D. Amido de mandioca modificado comparado com substitutos de gordura. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, p.155-161, 2001.

ZHOU, M.; ROBARDS, K.; GLENNIE-HOLMES, M.; HELLIWELL, S. Structure and pasting properties of oat starch. **Cereal Chemistry**, v.75, n.3, p 273-281, 1998.

ZOBEL, H.F.; STEPHEN, A .M. Starch: structure, analysis and application. In: **Food polyssacharides and their application.** New York, p.19-66, 1995.

ZACHARIASEN, W. **Theory of X-Ray Diffraction in Crystals.** Ed. Dover, New York, 276p., 1967.

ANEXOS

Anexo A

Effect of Physical-chemical Parameters on Sour Cassava Starch

Artigo publicado pela Revista *Stärke-Starch* (n. 61, p. 716-726, 2009).

Maria Janete Angeloni Maroon^a
 Diego Jacob Kurtz^a
 Josiane Collegaro Raguzzoni^b
 Ivonne Delgadillo^b
 Marcelo Maraschin^c
 Valdir Soldi^d
 Valéria Reginatto^a
 Edna Regina Amante^a

^a Department of Food Science
 and Technology,
 Federal University of
 Santa Catarina, Florianópolis,
 Santa Catarina, Brazil

^b Department of Chemistry,
 Aveiro University,
 Aveiro, Portugal

^c Plant Morphogenesis
 and Biochemistry Laboratory,
 Federal University of
 Santa Catarina, Florianópolis,
 Santa Catarina, Brazil

^d Department of Chemistry,
 Federal University of
 Santa Catarina, Florianópolis,
 Santa Catarina, Brazil

Expansion Properties of Sour Cassava Starch (Polvilho Azedo): Variables Related to its Practical Application in Bakery

Sour cassava starch (polvilho azedo) is a chemically and enzymatically modified starch with the specific property of expansion in bakery products without the use of any chemical or biological leavening agents. In this work, the cumulative knowledge about sour cassava starch is presented in relation to its physicochemical characteristics, with the purpose of establishing a relation between the application properties and some structural and chemical characteristics in order to design a model of the modified structure of starch and the most important technical variables. Such approach will help to provide some quality standards for future adequate valorization of sour cassava starch, especially with respect to potential use in gluten-free products. This work showed that a good sour cassava starch is significantly different from low expansion cassava starches with respect to pH, acid factor, swelling power, specific volume, and polymerization degree (intrinsic viscosity). These variables could be related to the maximization of sour cassava starch expansion for a future predictive decision analysis about a high quality sour cassava starch to the baking use.

Keywords: Cassava; Expansion; Fermentation; Polvilho

1 Introduction

Cheese bread and sour cassava starch roscas are two typical Brazilian products from "polvilho azedo". This gluten-free raw material is produced from cassava starch by chemical and enzymatic modification through a predominantly natural fermentative process [1]. The rheological properties of this natural polymer, such as expansion—the leavening of a dough to two or more times its initial volume without any addition of yeast—is attributed to its main ingredient: sour cassava starch. The substitution of polvilho azedo with native cassava starch results in a dough with significantly lower expansion [1].

The expansion of sour cassava starch has been exhaustively studied [2–10]. Results from these investigations showed that the method of drying had a strong influence on the degree of expansion. Mechanical drying resulted in a significantly lower expansion than sun-drying. It was proven that the ultraviolet radiation contributed to granule changes in the fermented cassava starch. On the other hand, only exposure to sunlight without fermentation or

lactic acid addition was not sufficient to achieve the desirable expansion properties of the product [10].

Organic acids produced during the fermentative process of cassava starch, predominantly lactic acid, influenced the sensory properties of the product and contributed to significant pH reduction. The starch polymers underwent extensive changes during fermentation [11]. Granules became perforated [1] and the natural amylose/amylopectin ratio changed. Besides, the polymerization degree of the remaining amylose and amylopectin was reduced in the granules [7, 8, 11, 12].

However, current knowledge on sour cassava starch properties is not sufficient to reliably predict its behavior in bakery products from its chemical characteristics. This is attributed to the lack of definitions on granule characteristics and their effects on dough formulated with sour cassava starch. The objective of this work was to develop a chemical scenario of the sour cassava starch expansion, which can help to explain the properties expected by the bakers. It was also attempted to establish any relation between physicochemical variables and expansion property by a structural model of the sour cassava starch expansion mechanism, contributing to a future decision model to maximize expansion.

Correspondence: Edna Regina Amante, Federal University of Santa Catarina - Food Science and Technology, Rod Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi Florianópolis Santa Catarina 88034-001, Brazil. Phone: +55-48-37215371, Fax: +55-48-37219949, E-mail: eamante@cca.ufsc.br.

PROPRIEDADE DE EXPANSÃO DO AMIDO DE MANDIOCA FERMENTADO (POLVILHO AZEDO): VARIÁVEIS RELACIONADAS À SUA APLICAÇÃO PRÁTICA NA PANIFICAÇÃO.

RESUMO 1

O amido de mandioca fermentado (*polvilho azedo*) é um amido modificado química e enzimaticamente com propriedade específica de expansão sem a utilização de fermento químico ou biológico em produtos de panificação. Neste trabalho o conhecimento acumulado sobre polvilho azedo foi estudado, em relação as suas características físico-químicas com o propósito de estabelecer uma relação entre as propriedades práticas e algumas características estruturais e químicas, para desenhar um modelo da estrutura modificada do amido e as mais importantes variáveis técnicas.. Essa abordagem ajudará a fornecer alguns padrões de qualidade adequados para a futura valorização do polvilho azedo, especialmente devido à possibilidade da sua utilização em produtos isentos de glúten. Este trabalho mostrou que um bom polvilho azedo tem diferenças significativas de pH, fator ácido, poder de inchamento, volume específico e grau de polimerização (viscosidade intrínseca) em comparação com os amidos de mandioca de baixa expansão. Essas variáveis poderiam ser associadas para a maximização da expansão do polvilho azedo para decisão de uma futura análise preditiva sobre uma alta qualidade de polvilho azedo utilizado em panificação.

Palavras-chave: mandioca; expansão; fermentação; polvilho, amido.

EXPANSION PROPERTIES OF SOUR CASSAVA STARCH (*POLVILHO AZEDO*): VARIABLES RELATED TO ITS PRACTICAL APPLICATION IN BAKERY

ABSTRACT 1

Sour cassava starch (*polvilho azedo*) is a chemically and enzymatically modified starch with the specific property of expansion without the use of any chemical or biological ferment in bakery products. In this work, the cumulative knowledge about sour cassava starch was studied, in relation to its physicochemical characteristics, with the purpose of establishing a relation between the practical properties and some structural and chemical characteristics in order to design a model of the modified structure of starch and the most important technical variables. Such approach will help provide some standard of quality for future adequate valorization of sour cassava starch, especially due to the opportunity of its use in gluten-free products. This work showed that a good sour cassava starch has significant differences of pH, acid factor, swelling power, specific volume, and polymerization degree (intrinsic viscosity) compared to that of low expansion cassava starches. These variables could be associated to the maximization of sour cassava starch expansion for a future predictive decision analysis about a high quality sour cassava starch to the baking use.

Keywords: cassava; expansion; fermentation; polvilho; starch.

Anexo B

Resumo do artigo 2 submetido à Revista *International Journal of Food Science and Technology*

EXPANSÃO DO POLVILHO AZEDO: UMA ANÁLISE SIMPLIFICADA QUE PERMITE A PREDIÇÃO ACESSÍVEL ÀS PEQUENAS AGROINDÚSTRIAS E AOS PANIFICADORES

RESUMO 2

Polvilho azedo é um amido de mandioca fermentado naturalmente, um produto azedo, seco ao sol, com importante propriedade de expansão, que forma estrutura alveolar e leve em produtos tradicionais de panificação, sem a utilização de fermento ou glúten, sendo um produto livre de glúten, produzido em pequenas indústrias, onde não existe um sistema interno de controle de qualidade dos processos e produtos. Este trabalho tem por objetivo estudar a relação entre amidos de mandioca nativos, polvilho azedo produzido em laboratório através da fermentação a partir de amido nativo de mandioca (polvilho azedo produzido em laboratório) e amostras de polvilho azedo comercial. A opinião dos panificadores sobre como é um bom produto para eles conduziu para algumas marcas de polvilho comercial que também foram estudados. Fator ácido, pH, volume específico, poder de inchamento e viscosidade intrínseca foram os parâmetros que melhor correlacionaram com a propriedade de expansão. Foi verificada uma boa correlação entre pH, fator ácido, viscosidade intrínseca e volume específico e índice de expansão, sendo o pH e fator ácido escolhido como variáveis para decisão sobre um bom desempenho de expansão do polvilho azedo, para marcas comerciais.

Embora o pH, percentual da perda de peso perdido durante o assamento são úteis como referência para o desempenho de panificação das amostras laboratoriais e comerciais de polvilho azedo. Assim tanto o pH e como fator ácido ou pH e o percentual de perda de peso são fáceis procedimentos, acessíveis para pequenas indústrias e panificadores e útil para a visualização do comportamento de expansão do polvilho azedo.

Palavras-chave: polvilho azedo, expansão, mandioca, amido, panificação.

**SOUR CASSAVA STARCH (*POLVILHO AZEDO*) EXPANSION:
THEORETICAL BASIS FOR A SIMPLIFIED ANALYSIS ACCESSIBLE TO
SMALL AGRO-INDUSTRIES AND BAKERS**

ABSTRACT 2

Polvilho azedo is a natural fermented cassava starch, a sour product, sun dried, with important expansion property, that form a alveolar and soft dough in traditional bakery products, without the use of ferment or gluten, being a gluten free product, made by small industries, where the control of the process or product does not below any quality system procedure. This work aimed study the relation between native cassava starches, sour cassava starch produced in laboratory from native cassava starch fermentation (*polvilho azedo* produced in laboratory), and commercial *polvilho azedo* samples. Baker's opinion about how is a good product for him, conduce to some trade marks that were studied also. Acid factor, pH, specific volume, swelling power and intrinsic viscosity were related to the expansion property. Was verified a good correlation between pH, acid factor, intrinsic viscosity and specific volume, and expansion index, being pH and acid factor chose as variable to decision about *polvilho azedo* good expansion performance, to commercial trade marks. While, pH and percent of weight lost during the cooking are useful as reference of bakery performance for laboratory and commercial *polvilho azedo* samples. So, both pH and acid factor, or pH and percent of weight lost are easy assay procedures, accessibles to small industries and bakers and useful for preview *polvilho azedo* expansion performance.

Key words: *polvilho azedo*, expansion, cassava, starch, bakery.

Anexo C

Árvore do Amido

A ÁRVORE DO AMIDO

